

SÉRIE A, N° 4028

N° D'ORDRE :
4879

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Monique CHÉTAIL

1^{re} THÈSE. — Etude de la régénération du tentacule oculaire chez un arionidæ (*Arion rufus* L.) et un limacidæ (*Agriolimax agrestis* L.).

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

14 FEV 1964

Soutenues le

, devant la Commission d'examen.

MM. PRENANT

Président.

COUTEAUX

FRANÇOIS

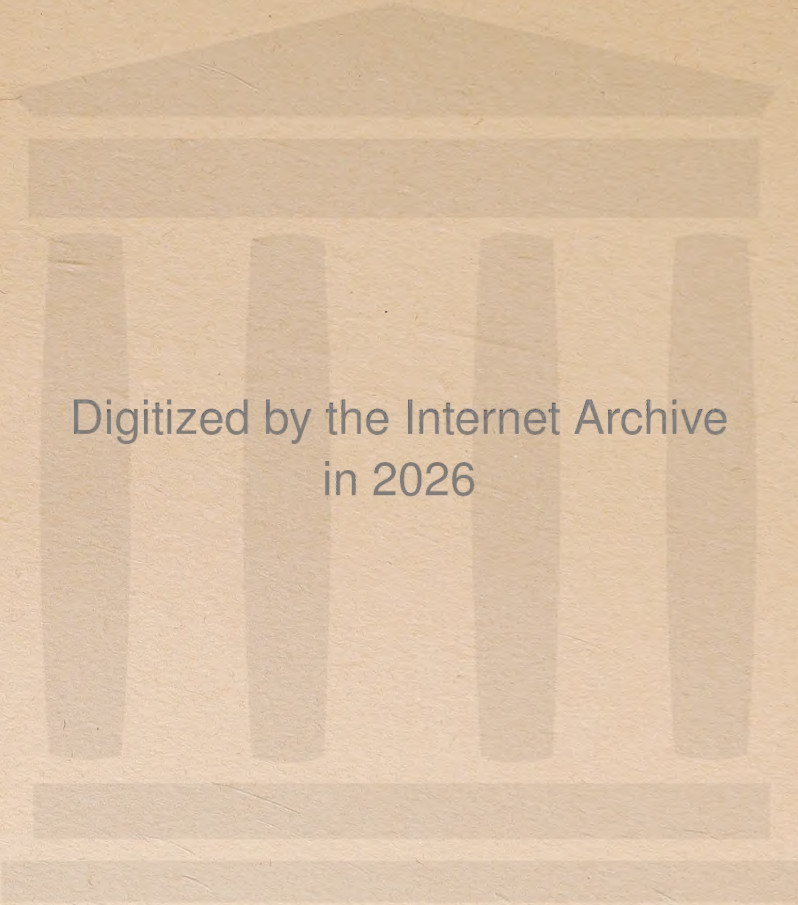
} *Examineurs.*

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, Boulevard Saint-Germain, PARIS (VI^e)

1963



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552208_0025

SÉRIE A, N° 4028

N° D'ORDRE :

4879

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Monique CHÉTAIL

1^{re} THÈSE. — Etude de la régénération du tentacule oculaire chez un arionidæ (*Arion rufus* L.) et un limacidæ (*Agriolimax agrestis* L.).

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le

, devant la Commission d'examen.

MM. PRENANT *Président.*

COUTEAUX }
FRANÇOIS } *Examineurs.*

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MEDECINE

120, Boulevard Saint-Germain, PARIS (VI^e)

1963

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS



Doyen M. ZAMANSKY.

PROFESSEURS

G. JULIA	T Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	COUTEAUX	T Biologie animale (P.C.B.).
DE BROGLIE	T Théories physiques.	MAY	T Zoologie (Orsay).
PRENANT	T Anat. et Histol. comp.	CHOQUET	T Théor. des fonctions et topologie.
GRASSÉ	T Evol. des êtres organisés.	FELDMANN	T Biologie végétale marine
PRÉVOST	T Chimie organique.	GUINIER	T Physique des solides (Orsay).
CHAUDRON	T Chimie appliquée.	JOST	T Physiologie comparée.
WYART	T Minéralogie et cristallogr.	FORTET	T Calcul des probabilités et physique mathémat.
TEISSIER	T Zoologie.	SCHWARTZ	T Calc. diff. et intégr.
MANGENOT	T Biologie végétale (Orsay).	CHOUARD	T Physiologie végétale.
P. AUGER	T Physique quant. et relat.	MALAVARD	T Aviation (Tech. aéron.).
MONNIER	T Physiologie générale.	BRELOT	T Calcul diff. et intégral.
PIVETEAU	T Paléontologie.	NORMANT	T Synthèse organ. générale.
ROCARD	T Physique (E. N. S.).	BÉNARD	T Chimie minérale.
H. CARTAN	T Mathématiques (E. N. S.).	BUVAT	T Botanique (E. N. S.).
LAFFITTE	T Chimie générale.	DUGUÉ	T Statistiques mathémat.
FAVARD	T Géométrie supérieure.	SOULAIRAC	T Psychophysiology.
COULOMB	T Physique du Globe.	ULRICH	T Physiol. végétale.
M ^{lle} COUSIN	T Biol. animale (S.P.C.N.).	MARÉCHAL	T Optique théor. et appl.
CHRÉTIEN	T Chimie minérale.	KIRRMANN	T Théories chimiques.
P. DRACH	T Zoologie.	CHADEFAUD	T Botanique.
KASTLER	T Physique (E. N. S.).	M ^{lle} LE BRETON	T Physiol. de la nutrition.
EPHROSSI	T Génétique.	SALEM	T Mathématiques générales.
RIVIÈRE	T Géologie (S. P. C. N.) et sédimentation.	LELONG	T Application de l'analyse à la géométrie.
GAUTHERET	T Biol. végét. (P. C. B.).	DEVILLERS	T Anat. et histol. comp.
R. LUCAS	T Recherches physiques.	EHRESMANN	T Topologie algébrique.
A. THOMAS	T Biologie cellulaire.	FRANÇON	T Physique (S. P. C. N.).
ARNULF	T Optique appliquée.	GLANGEAUD	T Géogr. phys. et géol. dyn.
M. MORAND	T Enseign. de physique.	GODEMENT	T Mathématiques (M. P. C.).
SOLEILLET	T Physique (P. C. B.).	PISOT	T Technique mathématique de la physique.
FORTIER	T Mécan. expér. des fluides.	E. ROCH	T Géologie.
DANJON	T Astronomie.	SCHATZMANN	T Astrophysique.
PETIT	T Biologie maritime.	TERMIER	T Paléontol. stratigraph.
QUENEY	T Météorologie et dynamique atmosphérique.	ZAMANSKY	T Mathémat. générales.
GALLIEN	T Embryologie.	LENNUIER	T Physique (M. G. P.).
EICHORN	T Botanique.	RIZET	T Génétique (Orsay).
DE CUGNAC	T Biol. végét. (S. P. C. N.).	ROUTHIER	T Géologie appliquée.
M ^{lle} CAUCHOIS	T Chimie physique.	M ^{me} TONNELAT	T Physique théorique.
THELLIER	T Physique du Globe.	DIXMIER	T Mathématiques (M. P. C.).
L'HÉRITIER	T Biologie générale (Orsay).	SOUCHAY	T Chimie générale.
GRIVET	T Radio-Électricité (Orsay).	AIGRAIN	T Electrotech. génér.
PONCIN	T Mécanique générale.	BRUSSET	T Chimie systématique.
DUBREIL	T Arithmétique et théorie des nombres.	M. LÉVY	T Physique théorique des hautes énergies (Orsay).
QUELET	T Chimie organique.	M ^{me} CHAIX	T Chimie biologique.
CAGNIARD	T Géophysique appliquée.	M ^{me} HUREL-PY	T Biol. végétale (P. C. B.).
CHAMPETIER	T Chimie macromolécul.	PIAUX	T Chimie (M. P. C.).
CUVILLIER	T Micropaléontologie.	BRUN	T Mécan. théor. des fluides.
JUNG	T Pétrographie.	LEDERER	T Chimie biologique.
TRILLAT	T Microscopie et diffraction électronique.	M ^{me} DUBREIL	T Mathématiques (Agrég.).
WIEMANN	T Chimie org. et structur.	M ^{me} LELONG	T Mathématiques (E. N. S.).
JACQUINOT	T Spectroscopie et phys. céleste (Orsay).	BELLAIR	T Géologie (S. P. C. N.).
VASSY	T Physique de l'atmosph.	COTTE	T Physique électricité.
DESTOUCHES	T Théories physiques.	J.-E. DUBOIS	T Chimie organique.
AMIEL	T Chimie générale.	LAMOTTE	T Zoologie (E. N. S.).
HOCART	T Minéralogie et cristallogr.	A. MICHEL	T Chimie minér. (Orsay).
J.-P. MATHIEU	T Physique (Optique).	OLMER	T Energétique générale.

Professeurs (suite).

ROUAULT T Electricité (Orsay).
GAUTHIER T Mécanique appliquée.
BARCHEWITZ T Chimie physique.
BROSSEL T Physique atomique.
BUSER Physiologie comparée.
CAMUS Physiologie végétale.
(B. M. P. V.).
CASTAING T Physique (Orsay).
CURIEN T Minéral. et cristallogr.
MOYSE T Minéral. végét. (Orsay).
NOIROT Evolut. des Etres organ.
PANNETIER T Chimie générale (Orsay).
POSSOMPÈS T Zoologie.
PULLMANN T Chimie théorique.
TEILLAC T Physique nucl. et radio-
activité.
TONNELAT T Biol. physico-chimique.
VILLE T Econométrie.
WILLEMART Chimie (P. C. B.).
DODÉ T Chimie (Orsay).
FREYMANN T Recherches physiques.
GUINOCHE T Biol. vég. (S. P. C. N.)
(Orsay).
ROLLET T Chimie (P. C. B.).
M^{lle} JOSIEN T Chimie (S. P. C. N.).
CHEVALLEY T Géomètr. algebr. et théor.
des groupes.
ARNOULT T Electronique (Orsay).
CHAPELLE T Physique (Orsay).
DELANGE T Mathématiques (Orsay).
DENY T Mathémat. gén. (Orsay).
GERMAIN T Mécan. théor. des fluides.
G. LUCAS T Géologie.
ALLARD T Chimie physique.
BERTHELOT T Phys. fond. des Hautes
Energies (Orsay).
BRICART T Météorologie et phys. de
l'atmosphère.
M^{me} ALBE-FESSARD Psychophysiologie.
FRIEDEL Phys. des solides (Orsay).
M. JULIA Etudes des moléculaires
naturelles complexes.
LENDER T Biol. animale (S. P. C. N.)
(Orsay).
MAGAT Physico-chimie des radio-
éléments.
M^{lle} QUINTIN T Electrochimie.
MONOD T Chimie du métabolisme.
BENOIT T Physiol. animale (Orsay).
DE POSSEL T Analyse numérique.
CHARLOT T Chimie analytique.
HAUSSINSKY T Radiochimie.
LÉMÉE T Physiologie végétale
(B. M. P. V.) (Orsay).
GUÉRIN T Chimie (M. P. C.) (Orsay).
M. CHATELET Chimie (P. C. B.).

JEAN T Physique nucléaire
(Orsay).
MATTIER T Physique (S. P. C. N.)
L. MICHEL Phys. théorique des
hautes énergies (Orsay).
BERGERARD Zoologie (Orsay).
BERTEIN Electronique (Orsay).
BOUSSIÈRES Chimie des radio-élem.
(Orsay).
M^{me} COUTURE Thermodynam. et mécan.
physique.
ELLENBERGER Géol. appl. sur le terrain.
FRANC Biol. animale (P. C. B.).
SCHNELL Botanique tropic. (Orsay).
STOLKOWSKI Physiologie générale.
ACHER Chimie biol. (Orsay).
BAUDOIN Biol. animale (P. C. B.).
BEAUMONT Biol. animale (S.P.C.N.).
BLAMONT Géophys. Ionosphère.
BOURREAU Botanique.
D. CURIE Physique (M. G. P.).
DURAND-DELGA Géologie.
FRÉON T Chimie organ. (Orsay).
HELLER Physiologie végétale.
TORTRAT Calcul des probabilités.
CAILLEUX Géologie (S. P. C. N.).
MAGNAN T Physique (S. P. C. N.).
DAUDEL T Mécan. ondul. appl. à la
chimie théor. et à la
phys. nucl.
M^{me} FOURCROY Biol. végét. (S. P. C. N.).
M^{me} CHOQUET-
BRUHAT T Méc. Analytique et Méc.
céleste.
M^{me} VEIL Physiologie générale.
LWOFF T Microbiologie.
SIESTRUNK T Mécan. Phys. et Expérim.
LACOMBE T Métallurgie des métaux
Nucléaires.
BROCHART T Physique (P. C. B.)
(Orsay).
CABANNES T Mécanique générale.
LESIEUR T Mathématiques (M. P. C.)
(Orsay).
MAZET T Mécanique gén. (Orsay).
CAIRE Géographie phys. et Géol.
Dynamique.
COMOLET Mécanique des Fluides.
CORABOEUF Physiologie Animale.
DELLOUE Physique de l'exosphère.
GORENFLOT Botanique II (Orsay).
HOULLON Biol. animale (P. C. B.).
J. JULLEN Chimie (P. C. B.).
MALGRANGE Tech. Math. de la phys.
OLIVIER Anthropologie.
NOZÉLAN T Botanique II (Orsay).
BLANC-LAPIERRE Phys. (E. N. S.) (Orsay).

Secrétaire général R. POUILLAIN.

Ces recherches, commencées au Laboratoire de Zoologie de la Faculté des Sciences de Poitiers, sous la direction de M. le Professeur M. DE LARAMBERGUE, ont été poursuivies au Laboratoire d'Anatomie et d'Histologie comparées de la Faculté des Sciences de Paris, sous la direction de M. le Professeur M. PRENANT.

Ce sujet de recherches m'a été proposé par M. le Professeur M. DE LARAMBERGUE que je remercie très vivement pour l'intérêt avec lequel il a suivi la progression de ce travail malgré mon départ de Poitiers, et aussi pour ses conseils et encouragements, tout d'abord en tant que directeur et par la suite comme parrain de recherches.

J'assure M. le Professeur M. PRENANT de ma gratitude pour les possibilités de travail que j'ai trouvées dans son laboratoire et également pour m'avoir accordé un poste d'Assistante dans son service.

Je remercie MM. les Professeurs COUTEAUX et FRANÇOIS qui ont bien voulu faire partie de mon jury.

M. M. GABE, Directeur de Recherches au C. N. R. S., m'a fait bénéficier de ses conseils au début de ce travail; je lui exprime ici ma reconnaissance.

J'adresse enfin mes remerciements à M. le Directeur du C. N. R. S. pour les allocations de recherches qui me furent attribuées et sans lesquelles ce travail n'aurait pu être entrepris.

ÉTUDE DE LA RÉGÉNÉRATION DU TENTACULE OCULAIRE CHEZ UN ARIONIDÆ (*ARION RUFUS* L.) ET UN LIMACIDÆ (*AGRIOLIMAX AGRESTIS* L.)

Par MONIQUE CHÉTAIL

(Laboratoire d'Anatomie et d'Histologie comparées
de la Faculté des Sciences de Paris
et Laboratoire de Zoologie de la Faculté des Sciences de Poitiers.)

SOMMAIRE

<i>Introduction</i>	130
I. — <i>Matériel et méthodes</i>	131
1. Espèces utilisées	131
2. Elevage	132
3. Anesthésie et ablation du tentacule	133
4. Injections	134
5. Techniques histologiques et histochimiques	135
II. — <i>Tentacule oculaire d'Arion rufus L. et d'Agriolimax agrestis L</i>	136
1. Historique	136
2. Morphologie	138
3. Anatomie	138
4. Mouvements du tentacule	140
5. Histologie et histochimie	141
6. Malformations spontanées du tentacule oculaire	149
III. — <i>Développement embryonnaire du tentacule oculaire</i>	151
1. Historique	151
2. Etude personnelle	154
A. Techniques	154
B. Morphologie de l'embryon	154
C. Etude topographique et histochimique de la morphogénèse des organes sensoriels tentaculaires	156
D. Discussion des résultats et conclusions	160

IV. — <i>Régénération du tentacule oculaire</i>	162
1. Historique	162
2. Etude personnelle	164
A. Observations préliminaires	164
B. Les faits consécutifs à l'ablation	165
1° La dégénérescence nerveuse	165
a. Dégénérescence secondaire	166
b. Dégénérescence rétrograde	171
2° La régénération tentaculaire	174
a. Cicatrisation	174
b. Latence	177
c. Activation et croissance	179
d. Différenciation et retour à la normale	181
V. — <i>Etude dynamique de la régénération tentaculaire</i>	184
1. Injections physiologiques	184
A. Action de la colchicine	184
B. Action du bleu trypan	187
C. Action de l'encre de Chine	190
D. Action du carmin lithiné	190
2. Traumatismes divers	191
A. Section de la gaine tégumentaire invaginée sans produire de lésion nerveuse ou musculaire	192
B. Section du muscle rétracteur et des nerfs sensoriels sans léser la gaine tégumentaire et en laissant les deux segments tentaculaires en place	192
C. Ablation totale du tentacule	194
VI. — <i>Conclusions générales</i>	195
Résumé	197

INTRODUCTION

Les recherches sur la régénération des tentacules oculaires chez les Pulmonés Stylommatophores sont toutes assez anciennes à l'exception du travail d'ABELOOS (1942). Dans l'ensemble, les travaux consacrés à cette question ont abordé le problème d'un point de vue purement topographique, en insistant sur les organes sensoriels régénérés proprement dits et non sur les stades initiaux de cette régénération; histologiquement, ces travaux n'apportent que des renseignements partiels ou superficiels et, entre autres, ils ne résolvent pas le problème de l'origine des tissus régénérés; quant au point de vue histochimique, il n'a jamais été abordé.

En dehors du mémoire de LAVIOLETTE (1954), qui concerne la régénération du tissu germinale chez *Arion rufus* L., tissu trop différent de ceux dont j'ai étudié la régénération pour pouvoir établir des comparaisons, il n'existe aucune étude histochimique de ce phénomène dans le groupe des Mollusques. Les seuls travaux histochimiques sur la régénération concernent soit les Planaires (CLÉMENT-NOËL, 1944), soit les Amphibiens

(CLÉMENT-NOËL, 1944), soit les Mammifères (CLÉMENT-NOËL, 1944, et FIRKET, 1951).

Il était donc justifié de reprendre l'étude de la régénération du tentacule oculaire chez les Pulmonés Stylommatophores, de l'analyser histochimiquement et de vérifier les résultats de cette analyse par une étude expérimentale. Dans ce but, j'ai choisi, parmi les substances histochimiquement décelables, quelques-unes de celles qui sont considérées comme jouant un rôle important dans les phénomènes d'histogenèse : acide thymonucléique, ribonucléines, phosphatases alcalines, glycogène, etc.

La connaissance des modifications histochimiques des tissus en cause et de la succession de ces modifications au cours de la néoformation de ces tissus était susceptible d'apporter une solution à certains des problèmes posés par la régénération du tentacule oculaire des Pulmonés Stylommatophores; parmi ces problèmes, je me suis plus particulièrement attachée à résoudre celui de l'origine des tissus régénérés qui n'avait pas été envisagé jusqu'ici.

I. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. — ESPÈCES UTILISÉES

Après divers essais, seules deux espèces ont été retenues : un Limacidae *Agriolimax agrestis* L. et un Arionidae *Arion rufus* L.

Agriolimax agrestis L., limace grise de petite taille, à carène dorsale, est encore pourvue d'une limacelle. Elle présente les avantages suivants : elle est très commune toute l'année, sa croissance très rapide nécessite seulement 3 ou 4 mois, de plus la ponte a lieu en toute saison et les œufs sont transparents. Quelques inconvénients diminuent ces qualités; ce sont, d'une part, la fragilité du tégument qui rend difficiles les interventions, ce qui a empêché d'utiliser cette espèce pour l'analyse expérimentale, et, d'autre part, le petit nombre d'œufs que comportent les pontes permet seulement de disposer de lots homogènes peu nombreux.

Arion rufus L., la limace rouge commune est une espèce de grande taille, à pore muqueux caudal, qui ne possède plus de limacelle, mais des granulations calcaires isolées situées sous le bouclier céphalique. Comme *Agriolimax*, cette espèce est très répandue et possède certains avantages : les pontes d'*Arion* comportent une centaine d'œufs, parfois davantage, ce qui rend possible l'obtention de lots de jeunes homogènes et nombreux; en outre, le tégument, plus résistant que celui d'*Agriolimax*, se prête mieux aux opérations. Malheureusement, cette espèce présente aussi quelques inconvénients : les œufs sont opaques, il est donc nécessaire d'extraire l'embryon de l'œuf pour apprécier le degré du développement; enfin et

surtout, la ponte ne se produit qu'à l'automne ce qui est un grave défaut en cas d'insuccès des élevages et oblige à remettre à la saison de ponte suivante l'obtention de jeunes d'âge connu.

2. — ELEVAGE : OBTENTION DES PONTES ET DE LEUR DÉVELOPPEMENT;
SOINS DES JEUNES

Tous les élevages ont été effectués à partir de sujets adultes récoltés dans la nature au moment de la maturité sexuelle, soit en Limousin, soit en Bourgogne ou dans la région parisienne. Les sujets recueillis sont élevés au laboratoire, dans de grands cristallisoirs ou dans des bacs en verre tapissés de buvard humide et recouverts d'une plaque de verre ou d'un fin grillage en matière plastique; pour *Agriolimax*, espèce de petite taille, des bocaux de conserve conviennent parfaitement. La nourriture, qui consiste en feuilles de salade et rondelles de carottes, est fournie en abondance et renouvelée fréquemment. Les récipients d'élevage doivent être nettoyés tous les 2 jours. Dans ces conditions, on observe des accouplements qui, généralement, sont suivis après quelques jours du dépôt des premières pontes. Lorsque l'on destine les œufs à l'étude du développement embryonnaire, il faut surveiller les élevages au moins 2 fois par jour pour recueillir les pontes dès leur dépôt et éviter leur souillure par le mucus et les déjections.

Les œufs, mis en incubation à la température ambiante (de 10 à 15° C), sont lavés si cela est nécessaire et disposés sur une lame de verre déposée dans une boîte de Pétri garnie d'un papier filtre humide dont le degré d'humidité est fréquemment surveillé et maintenu constant. Chez *Arion*, dont les pontes comportent une centaine d'œufs, le développement nécessite dans ces conditions de 4 à 6 semaines; les années où la température est particulièrement basse, il n'est pas rare d'obtenir des éclosions plus de 2 mois après la ponte. Chez *Agriolimax*, on ne compte qu'une vingtaine d'œufs par ponte et l'éclosion se produit au bout de 2 ou 3 semaines.

Après l'éclosion, les jeunes sont manipulés avec un pinceau très fin et élevés d'abord dans des bocaux de conserve ordinaires, et ensuite dans des bacs de plus en plus grands au fur et à mesure de leur croissance, et nourris avec de la laitue, des carottes ou divers autres légumes. Pour les expériences de régénération, on a utilisé soit des *Agriolimax* de 1 mois et demi environ, soit des *Arion* de 4 à 5 mois.

Malgré bien des précautions, ces élevages ont procuré parfois bien des soucis; en ce qui concerne *Arion rufus* L. notamment, pour avoir la certitude de disposer au printemps d'un assez grand nombre de jeunes d'âge connu, il convient de mettre en train un élevage très important dès l'automne. La conduite d'élevages nombreux, qui chaque année sont à recommencer, exige une surveillance assidue et des soins astreignants.

3. — ANESTHÉSIE ET ABLATION DU TENTACULE

Plusieurs anesthésiques ont été expérimentés avant d'arriver à un résultat satisfaisant; le but à atteindre était d'obtenir une anesthésie suffisante, provoquant en même temps un relâchement de la musculature; il est en effet impossible de réussir chez les Mollusques une opération comportant une ouverture tégumentaire sur un sujet contracté, car il en résulte généralement une éventration qui détermine presque toujours la mort de l'animal.

Parmi les produits essayés et à l'emploi desquels il a fallu renoncer, car ils ne provoquent pas le relâchement musculaire souhaitable, citons : le chloréthane en solution à 2 %, les vapeurs de chloroforme, le nembutal en solution à 1 %; finalement, ces anesthésiques ont été délaissés au profit de l'éthyl-uréthane en solution à 1 % dans le liquide physiologique à 6 %. Cet anesthésique est très bien supporté, il agit de façon ménagée et permet d'avoir des sujets non contractés.

L'anesthésie est conduite de la manière suivante : on fait jeûner 1 ou 2 jours auparavant les sujets à opérer; puis après avoir sectionné la partie libre du bouclier céphalique pour dégager la tête, on dépose les limaces dans une boîte de Pétri assez grande pour leur permettre une extension totale et remplit d'une solution d'uréthane à 1 %. La durée de l'immersion doit être de 20 minutes environ, mais peut être prolongée sans dommage jusqu'à une heure. Les limaces sont ensuite lavées pendant une minute à l'eau courante pour les débarrasser du mucus qu'elles ont sécrété en abondance au contact de l'anesthésique. Dans la solution d'uréthane, certaines limaces dévagincent parfaitement leurs tentacules tandis que d'autres les rétractent, aussi faut-il trier les limaces anesthésiées avant de procéder aux ablations proprement dites. La limace à opérer est transportée avec une spatule sur une lame de verre couverte d'un buvard humide et placée sur la platine de la loupe binoculaire sous laquelle se déroulent toutes les opérations. Quel que soit le type d'intervention effectué, elle a toujours porté sur le tentacule gauche, le tentacule droit est respecté et conservé comme témoin; 4 types d'expériences ont été réalisés :

Le cas le plus fréquemment étudié est celui de l'ablation de la partie distale du tentacule oculaire. Seules les limaces ayant leurs tentacules parfaitement dévaginés conviennent pour cette expérience qui ne présente, par ailleurs, aucune difficulté ni de suite fâcheuse pour les animaux qui en sont l'objet, car elle ne nécessite pas d'ouverture tégumentaire, ce qui permet d'effectuer ce type d'ablation chez *Arion* et chez *Agriolimax*. La limace à opérer est placée sous la loupe binoculaire et le tentacule oculaire gauche est sectionné à sa base avec de fins ciseaux courbes. Une telle section intéresse tous les tissus présents dans le tentacule (tégument, muscle rétracteur, tissu nerveux), mais présente l'inconvénient de laisser

en place une petite partie du muscle rétracteur et des nerfs sensoriels; aussi, par la suite, d'autres variantes opératoires ont été imaginées, variantes qui n'ont pu être réalisées avec succès que chez *Arion* et sur des sujets anesthésiés avec les tentacules rétractés. Dans ces conditions, grâce à une fente pratiquée dans le tégument céphalique dorsal, et grâce aussi au mode de rétraction du tentacule (voir chapitre II), qui lorsqu'il s'invagine se dépouille en quelque sorte de sa gaine tégumentaire sauf à son extrémité distale, il est possible de procéder aux 3 opérations suivantes :

— Section de la gaine tégumentaire invaginée sans provoquer de lésion nerveuse ou musculaire.

— Section du muscle rétracteur et des nerfs sensoriels qu'il contient, sans léser la gaine tégumentaire.

— Ablation totale du tentacule oculaire en sectionnant, du côté distal, la gaine tégumentaire invaginée et, du côté proximal, le muscle rétracteur et les nerfs sensoriels à leur point d'attache.

La figure 44 représente schématiquement les 4 types d'expériences effectuées. Les limaces opérées sont placées dans des cristallisoirs garnis de papier filtre mouillé, et maintenues à jeun pendant 2 ou 3 jours. La mortalité postopératoire, qui est nulle dans le cas de l'ablation de la partie distale du tentacule oculaire, se situe entre 10 et 20 % pour les autres opérations; cette mortalité se produit uniquement pendant les 2 jours qui suivent l'intervention, après ce délai, les sujets qui ont survécu peuvent être conservés sans aucune difficulté.

4. — INJECTIONS

Les substances utilisées ont été mises en solution dans le liquide physiologique à 6 p. 1 000; ces solutions doivent être préparées extemporanément et sont injectées dans la cavité générale à l'aide d'une seringue à insuline graduée en quarantièmes de centimètre cube, ce qui permet d'injecter facilement de très petites quantités de ces solutions, généralement de 1/8 à 1/16 de cm³ selon la taille des sujets. Après chaque injection, l'aiguille doit être soigneusement nettoyée avec le mandrin avant de servir une nouvelle fois, le canal de l'aiguille étant facilement obstrué par du mucus.

L'action sur la régénération des substances suivantes a été étudiée : la colchicine à 1 p. 5 000, le bleu trypan à 1 p. 1 000, l'encre de Chine pour tatouage de cornée diluée 5 fois, et le carmin lithiné à 1 p. 1 000.

Les limaces supportent fort bien les injections, même dans le cas d'expériences de longue durée, et ne nécessitent par la suite aucun soin particulier; toutefois, ces injections n'ont été pratiquées de façon systématique que chez *Arion*, espèce de plus grande taille et plus résistante qu'*Agriolimax*.

5. — TECHNIQUES HISTOLOGIQUES ET HISTOCHIMIQUES

Les limaces ont été fixées *in toto* par les liquides de Bouin, Flemming, Regaud, Carnoy et Gendre ainsi que par l'alcool à 95° et le Susa. Ces fixateurs ont été injectés dans la cavité générale à l'aide d'une seringue hypodermique, l'injection étant poussée vers l'avant; de cette façon, on obtient une meilleure fixation des tissus et parfois une extension de la tête des sujets fixés. Les limaces injectées sont ensuite immergées dans le fixateur pendant quelques minutes, jusqu'à l'obtention d'un durcissement suffisant; à l'aide d'une lame de rasoir, on sectionne alors transversalement le corps de la limace au niveau du pneumostome et l'on remplace les pièces dans le fixateur pour une durée qui varie selon les liquides. Seule la région céphalique, située en avant du pneumostome, a été étudiée histologiquement, car c'est dans cette région que se trouvent les tentacules et les ganglions cérébroïdes.

Après déshydratation et éclaircissement soit au benzène, soit à l'huile de cèdre, les pièces ont été incluses dans la paraffine et débitées en coupes sériees d'une épaisseur de 7,5 microns à 5 microns et traitées par différentes méthodes selon le but recherché.

Les coupes provenant de pièces fixées au liquide de Bouin et au Susa ont été colorées par des techniques topographiques courantes : hémalum, picro-indigo-carmin; trichromes de Masson ou de Prenant, azan de Heidenhain.

Pour l'étude histochimique, seules les substances histochimiquement décelable, qui semblaient devoir jouer un rôle au cours de la régénération tentaculaire, ont été retenues.

L'acide thymonucléique a été recherché après fixation au Flemming ou au Regaud par la réaction nucléale de Feulgen.

Les ribonucléïnes ont été mises en évidence par la coloration au vert de méthyle-pyromine selon PAPPENHEIM-UNNA, après fixation au Carnoy ou bien par le bleu de toluidine tamponné après fixation au Bouin. Les résultats de ces colorations ont été contrôlés sur des coupes témoins soumises au préalable à l'action de la ribonucléase ou à l'hydrolyse chlorhydrique selon VENDRELY.

Le glycogène a été recherché par la réaction de Hotchkiss-Mc Manus à l'acide périodique-réactif de Schiff, après fixation au Gendre. Les coupes obtenues ont été comparées à des coupes témoins ayant subi l'action de la maltase ou de l'amylase salivaire.

La détection des phosphatases alcalines a été effectuée par la méthode de Gomori après fixation à l'alcool à 95°; les coupes sériees ont été confrontées avec des témoins variés : coupes mises en incubation dans un substrat dépourvu de glycérophosphate de Na, coupes ébouillantées avant d'être soumises à la réaction de Gomori pour détruire les activités phosphatasiques alcalines, coupes sur lesquelles on révèle uniquement soit le fer, soit le calcium, etc.

Les corps de Nissl ont été étudiés après fixation à l'alcool à 95° par la coloration à la gallocyanine de Becher.

Les lipides osmiophiles ont été mis en évidence par fixation au liquide de Flemming; dans le cas des lipides osmiophiles provenant de la dégénérescence des fibres nerveuses, ces lipides ont d'abord été insolubilisés par fixation au Regaud, puis après un lavage à l'eau courante pour éliminer le formol, les pièces ont été imprégnées au tétr oxyde d'osmium selon la méthode de Marchi.

II. — LE TENTACULE OCULAIRE D'ARION RUFUS L. ET D'AGRIOLIMAX AGRESTIS L.

1. — HISTORIQUE

Le tentacule oculaire très perfectionné des Pulmonés Stylommatophores a été l'objet d'un grand nombre de publications consacrées soit à l'anatomie ou à la physiologie de cet organe, soit à l'étude des éléments sensoriels tentaculaires par les méthodes d'imprégnation argentique.

MOQUIN-TANDON (1851) décrit l'anatomie du tentacule oculaire des Arionidés et montre, par ses expériences de physiologie, le rôle de cet organe dans l'olfaction.

La même année, LEYDIG mentionne l'existence de cellules neurosensorielles dans le tentacule d'un Basommatophore, *Lymnæa stagnalis*.

LESPEDES (1852) démontre le premier, à l'aide de la seule dissection, que le ganglion olfactif contenu dans le tentacule oculaire des Stylommatophores *Limax*, *Helix* et *Testacella*, donne naissance, d'une part, au nerf olfactif du côté proximal et, d'autre part, à des ramifications constituant « une véritable houppe nerveuse » du côté distal. Les travaux de MOQUIN-TANDON, LEYDIG et LESPEDES furent heureusement complétés par leurs successeurs.

De 1869 à 1872, FLEMMING retrouve les cellules neurosensorielles découvertes par LEYDIG chez *Lymnæa stagnalis* dans les tentacules oculaires de divers Pulmonés Stylommatophores; il décrit en détail le prolongement distal et proximal de ces cellules, observable après macération dans le bichromate.

Les travaux de physiologie effectués par DUBOIS (1880) chez *Helix pomatia* prouvent que la sensibilité olfactive est localisée principalement dans les tentacules oculaires et aussi, mais à un degré moindre, dans les petits tentacules et dans le tégument lui-même.

RETZIUS (1892) est le premier à étudier les tentacules oculaires des Stylommatophores par la méthode de Golgi. Il décrit en particulier les cellules sensorielles bipolaires des tentacules d'*Helix*, *Arion* et *Limax* et montre que les prolongements proximaux de ces cellules vont rejoindre les organes centraux et notamment la masse médullaire du ganglion olfactif.

DE LACAZE-DUTHIERS (1872) découvre et décrit, dans le ganglion cérébroïde des Gastéropodes Pulmonés aquatiques, une région particulière qu'il nomme « lobule de la sensibilité spéciale », car cette région est en relation avec les nerfs sensoriels (optique, olfactif et « acoustique »).

En 1894, DE NABIAS publie un important mémoire sur l'anatomie microscopique et l'histoire des centres nerveux des Gastéropodes. Il résulte de ce travail que le ganglion cérébroïde est constitué de trois régions distinctes : le procérébrum, le mésocérébrum et le postcérébrum; le procérébrum, le ganglion terminal du grand et du petit tentacule ainsi que le ganglion labial sont constitués par des cellules du même type que l'auteur nomme petites cellules chromatiques ou cellules du type II. Pour DE NABIAS, les cellules chromatiques sont histologiquement comparables aux globuli des Arthropodes et, comme chez ces derniers, elles n'existent que dans les régions sensorielles; le procérébrum serait donc une formation analogue au corps pédonculé des Arthropodes. Le travail de DE NABIAS précise, en outre, l'origine et la terminaison des nerfs cérébraux chez *Helix*, *Arion*, *Zonites* et *Limax*; l'auteur est le premier à avoir trouvé la véritable destination des nerfs moteurs du tentacule, qu'il nomme nerfs péri-tentaculaires externe et interne, dénomination qui a été conservée.

SAMASSA (1894), SMIDT (1902) et YUNG (1904) confirment et complètent les résultats de RETZIUS en ce qui concerne les cellules neurosensorielles. Les expériences physiologiques effectuées par YUNG (1904-1912) sur *Helix pomatia* précisent celles de DUBOIS et ont le mérite d'être confirmées par l'histologie; YUNG prouve que la plus grande sensibilité du tentacule oculaire, relativement aux autres régions du corps, provient de ce que les cellules neurosensorielles y sont en plus grand nombre.

Dans une monographie consacrée à *Helix pomatia*, MEISENHEIMER (1912) reprend l'étude anatomique et physiologique du tentacule oculaire et en particulier de l'œil; il montre que le sens de la vue est presque nul chez *Helix*, en dépit d'une différenciation assez poussée du globe oculaire.

Les travaux les plus importants consacrés au tentacule oculaire des Pulmonés Stylommatophores sont sans aucun doute ceux de HANSTRÖM (1925-1926). Utilisant la méthode de Golgi, HANSTRÖM montre qu'il existe une relation entre le degré de perfectionnement des tentacules et l'importance des centres procérébraux; il constate en outre une ressemblance, déjà entrevue par DE NABIAS, entre le ganglion tentaculaire et le précérébrum, puisqu'ils sont l'un et l'autre constitués par des cellules et des fibres nerveuses du même type. Pour HANSTRÖM, le procérébrum est la troisième et centrale partie d'un centre nerveux sensoriel très développé dont les première et deuxième parties périphériques sont constituées par les portions supérieure et inférieure du ganglion tentaculaire.

SCHULZ (1938), étudiant les cellules neurosensorielles du tentacule d'*Helix pomatia*, décrit plusieurs types de prolongements distaux; selon lui, chaque sorte de prolongement aurait une sensibilité propre (olfactive, gustative, visuelle).

DEMAL (1954) reprend l'étude de l'organe chémorécepteur tentaculaire de *Limax flavus* par les méthodes de Rogers et de Van Campenhout. En partant de la périphérie, il décrit dans cet organe les catégories cellulaires suivantes: d'abord de petites cellules sensorielles distales, puis des cellules connectrices proximales; entre les cellules sensorielles distales, on observe de gros neurones sensoriels isolés dont le prolongement central se rend dans le neuropile du ganglion olfactif; enfin, autour du neuropile de ce ganglion, on peut mettre en évidence des cellules ganglionnaires connectrices jouant un rôle de relais et conduisant l'influx vers le cerveau. Les travaux de DEMAL montrent, en outre, que les cellules sensorielles du tentacule sont groupées, à l'extrémité de cet organe, en lobules nerveux sensoriels; selon l'auteur, chaque lobule doit être considéré comme « l'unité structurelle fondamentale » caractérisant le tentacule des Gastéropodes Pulmonés.

TUZET, SANCHEZ et PAVANS DE CECCATY (1957) décrivent, au niveau du ganglion olfactif du tentacule oculaire d'*Helix aspersa*, un complexe neuro-endocrine; ils retrouvent le même complexe dans la seconde paire de tentacules. TUZET et ses collaborateurs pensent que l'organisation neuro-endocrine décrite est analogue à certaines formations connues chez les Crustacés ou les Insectes (organe x et glande du sinus; glandes rétro-cérébrales).

SANCHEZ et BORD (1958) signalent l'existence, chez les jeunes d'*Helix aspersa*, d'une glande transitoire dont les cellules se divisent activement par mitoses et sécrètent un produit qui se colore électivement par l'hématoxyline de Gomori. D'après les auteurs, cette formation située à la partie antérieure des ganglions cérébroïdes présente une structure et des caractères histologiques proches de ceux des organes ventraux des Pycnogonides et des corpora allata des Insectes. En conclusion, SANCHEZ et BORD suggèrent la possibilité d'une filiation entre les éléments de cette glande transitoire et les cellules neurosécrétrices.

Malgré les très nombreux travaux consacrés au tentacule oculaire des

Pulmonés Stylommatophores, une nouvelle étude de cet organe s'est avérée nécessaire afin d'en préciser certains points; en effet, ainsi que le montre la revue bibliographique qui précède, les auteurs ont généralement envisagé la question d'un point de vue assez particulier, soit purement anatomique ou physiologique, soit du point de vue assez spécial de l'histologie nerveuse ou de la neuro-sécrétion. Aussi, avant d'aborder l'histogenèse normale et régénérative du tentacule oculaire d'*Arion rufus* L. et l'*Agriolimax agrestis* L. au moyen de quelques techniques histologiques et histochimiques, il était indispensable d'étudier cet organe en usant des mêmes techniques pour disposer des éléments nécessaires à l'établissement d'une comparaison.

2. — MORPHOLOGIE

Comme tous les représentants de l'ordre des Stylommatophores, *Arion rufus* L. et *Agriolimax agrestis* L. sont caractérisés par des tentacules oculaires très perfectionnés, entièrement rétractiles à l'intérieur de la tête.

Ces tentacules sont des formations paires situées de part et d'autre de la masse bucco-pharyngienne; extérieurement, ils sont ornés de papilles verruqueuses, sauf à leur extrémité où le tégument devient parfaitement lisse.

Les tentacules oculaires en extension peuvent mesurer jusqu'à 1 cm et même plus chez les *Arion* de grande taille, et se présentent alors comme des organes cylindriques d'abord élargis à la base, puis s'effilant pour se renfler ensuite au sommet, au niveau du ganglion olfactif.

L'œil est visible par transparence, sous la forme d'un point noir, il est subterminal et en position externe.

3. — ANATOMIE (fig. 1, 1)

Elle a été étudiée en disséquant sous le binoculaire des tentacules oculaires en extension d'*Arion rufus* L. et d'*Agriolimax agrestis* L. Par suite de sa grande sensibilité, le tentacule oculaire se rétracte très rapidement, ce qui rend assez difficile l'obtention de cet organe en extension. On par-

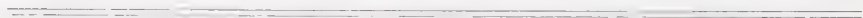


FIG. 1, 1 et 2. — 1. Anatomie et innervation du tentacule oculaire en extension.

2. Anatomie du tentacule rétracté montrant la position relative des différents constituants de cet organe à ce moment; seule la gaine tégumentaire est invaginée en doigt de gant.

o., œil; gg. ol., ganglion olfactif; n. op., nerf optique; n. ol., nerf olfactif; t., gaine tégumentaire; n. p. e., nerf péricentaculaire externe; n. p. i. nerf péricentaculaire interne; m., muscle rétracteur du tentacule ou de la tête; gg. c., ganglion cérébroïde; pr., procérébrum.

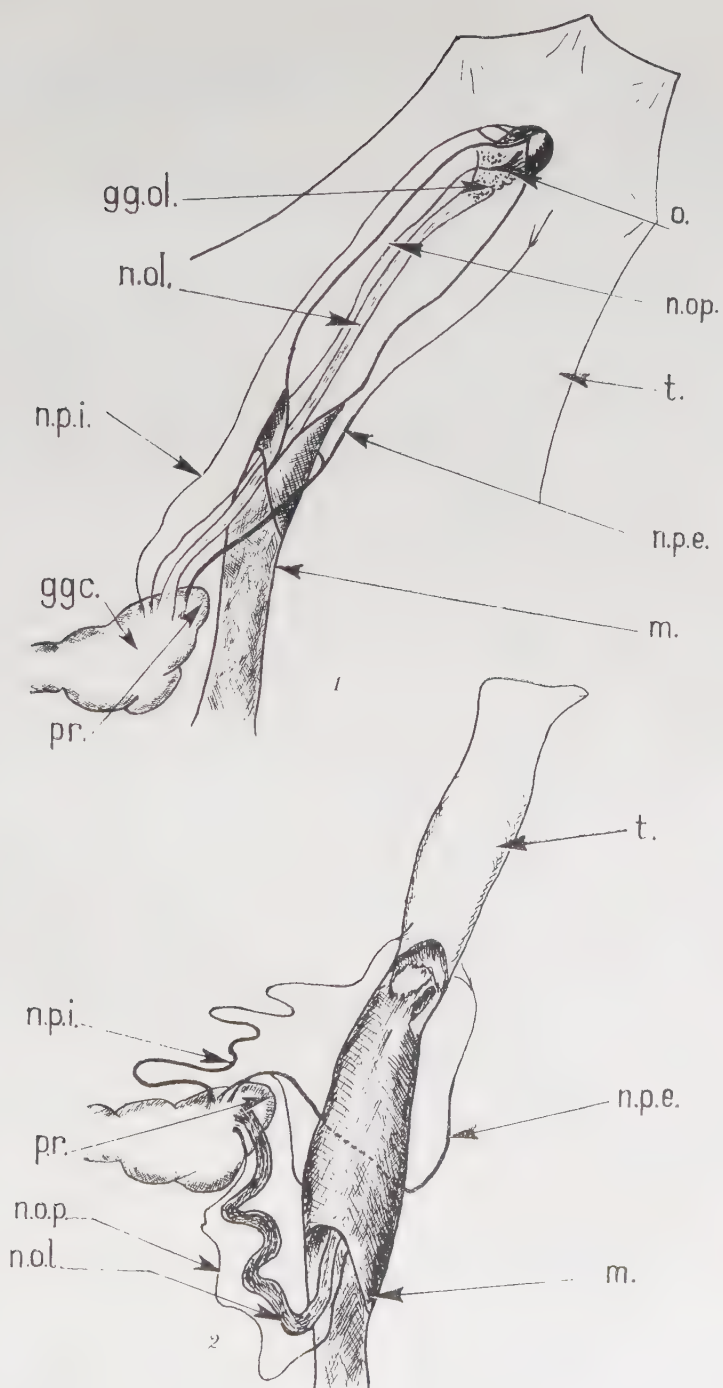


FIG. 1.

vient cependant à un résultat assez satisfaisant en tuant les limaces à disséquer par une immersion de quelques heures dans une solution d'éthyluréthane à 1 %.

On peut distinguer, dans une dissection de tentacule oculaire d'*Arion rufus* L. ou d'*Agriolimax agrestis* L. les constituants suivants :

La gaine tégumentaire, extérieurement ornementée et pigmentée à la base du tentacule, devient unie et blanchâtre au sommet de cet organe.

Le muscle rétracteur est une ramification du muscle rétracteur de la tête; d'abord plat et blanc, ce muscle se transforme en un tube fortement pigmenté enveloppant les nerfs sensoriels. Sur toute leur longueur, le muscle rétracteur et la gaine tégumentaire sont sans adhérence, sauf à l'extrémité du tentacule; il résulte de cette disposition que les gaines tégumentaire et musculaire peuvent coulisser librement l'une sur l'autre lorsque le tentacule se rétracte.

Les quatre nerfs du tentacule oculaire naissent tous du ganglion cérébroïde ou y arrivent.

Le nerf péritentaculaire externe et le nerf péritentaculaire interne sont les nerfs moteurs du tentacule; ils sont très grêles et situés dans l'espace compris entre les gaines tégumentaire et musculaire et innervent ces 2 gaines soit du côté externe, soit du côté interne, ainsi que leur nom l'indique.

En fendant longitudinalement le muscle rétracteur, on fait apparaître les nerfs olfactif et optique, nerfs sensoriels du tentacule. Le *nerf olfactif*, très long et volumineux, parcourt la gaine musculaire selon son axe longitudinal et s'épanouit en un ganglion qui se résout en plusieurs digitations aboutissant à l'extrémité du tentacule, région où les tissus tégumentaire, musculaire et nerveux sont interpénétrés. Le *nerf optique* est beaucoup plus fin que le nerf olfactif auquel il se trouve accolé par du tissu conjonctif et dont il peut être dissocié à l'aide d'aiguilles montées; le nerf optique sillonne le tentacule sur toute sa longueur, il augmente légèrement de diamètre avant d'aboutir à l'œil, petite sphère noire, extérieure et dorsale relativement au ganglion olfactif.

L'artère tentaculaire prend naissance à partir de l'artère céphalique; elle pénètre à l'intérieur de la gaine musculaire où elle se résout en un système de sinus.

4. — MOUVEMENTS DU TENTACULE (fig. 1, 1, et 1, 2)

Ils ont été étudiés de façon précise en disséquant des tentacules à l'état d'extension ou de rétraction. La connaissance exacte des mouvements de cet organe a permis, d'une part, d'utiliser indifféremment les préparations

provenant de tentacules étendus ou rétractés et, d'autre part, de concevoir des variantes dans les ablations tentaculaires.

La rétraction du tentacule est due à l'action du muscle rétracteur qui, en se contractant, se raccourcit considérablement, provoquant ainsi l'invagination de la gaine tégumentaire et le reflux de l'hémolymphe dans la cavité générale. Lorsqu'un tentacule est rétracté, il est donc dépouillé de sa gaine tégumentaire sauf dans la région terminale, les organes sensoriels sont entraînés au fond de la fosse de rétraction du tentacule, alors qu'ils occupent normalement l'extrémité de cet organe en extension.

L'extension du tentacule résulte de l'afflux de l'hémolymphe qui se trouve alors injectée dans l'espace compris entre le muscle rétracteur et la gaine tégumentaire; c'est donc sous l'action de la pression sanguine que la gaine tégumentaire se déploie et que les organes sensoriels retrouvent leur position distale.

Ces mouvements de rétraction et d'extension tentaculaire se produisent chez tous les Stylommatophores et sont l'un des caractères distinctifs des représentants de cet ordre.

5. — HISTOLOGIE ET HISTOCHIMIE (fig. 2, 3, 4 et 5; tableau I)

La gaine tégumentaire du tentacule comporte un épiderme et une couche dermo-musculaire comme le tégument des autres régions du corps; il convient cependant de distinguer dans cette gaine une région latérale et une région distale, cette dernière présentant quelques particularités relativement à la structure type du tégument.

Latéralement, l'épiderme de la gaine tégumentaire est un épithélium cylindrique simple à mince cuticule; cette cuticule est interrompue au niveau des cellules muqueuses dont le col s'intercale entre deux cellules épidermiques. Cet épiderme repose sur une membrane basale qui le sépare de la couche dermo-musculaire sous-jacente. La couche dermo-musculaire, constituée surtout par des fibres musculaires lisses transversales et longitudinales, comporte en outre des cellules de Leydig, des cellules pigmentaires de forme rameuse, des cellules à calcaire remplies de grosses sphères de carbonate de calcium, enfin des cellules conjonctives douées d'athrocytose pour le bleu trypan.

A la partie distale du tentacule, et notamment dans la région oculaire et olfactive, la gaine tégumentaire a un aspect légèrement différent. L'épiderme est un épithélium simple dépourvu de cellules muqueuses intercalaires et il est constitué par des cellules plus plates et à cuticule plus épaisse que les cellules épithéliales que l'on observe dans l'épiderme des autres régions du corps; la couche dermo-musculaire, totalement absente au niveau de l'œil, est très réduite dans la région olfactive où elle ne com-

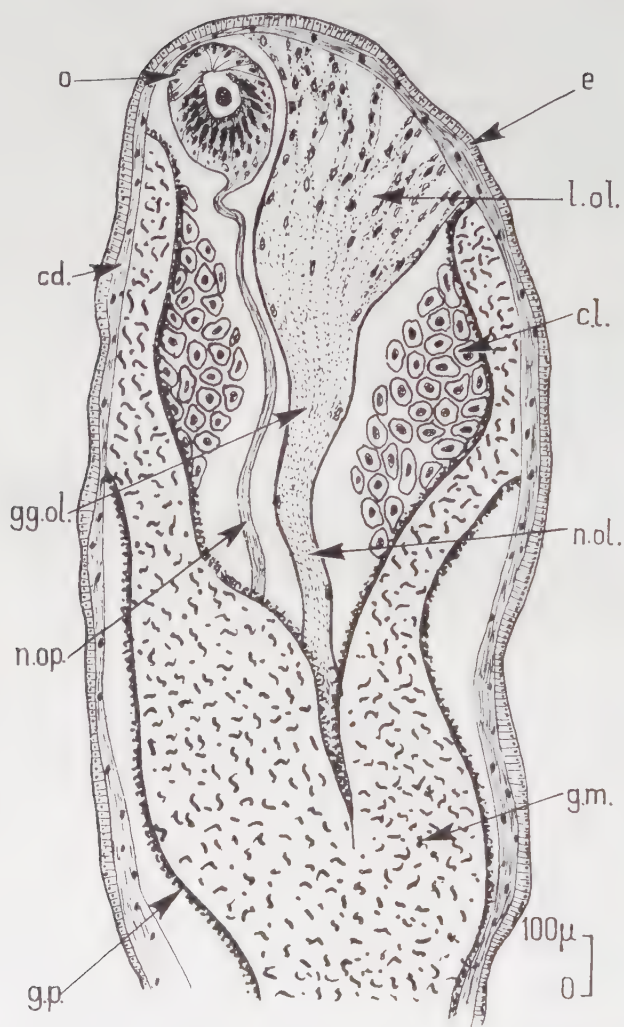


FIG. 2. — Histologie du tentacule oculaire. *o*, œil; *c. d.*, couche dermo-musculaire; *gg. ol.*, ganglion olfactif; *n. op.*, nerf optique; *g. p.*, gaine conjonctive pigmentée; *g. m.*, gaine musculaire; *n. ol.*, nerf olfactif; *c. l.*, cellules de Leydig; *l. ol.*, lobules olfactifs; *e.*, épiderme.

porte plus que quelques fibres musculaires isolées et quelques cellules conjonctives et pigmentaires.

Le muscle rétracteur, épais et tubulaire, est emballé extérieurement et intérieurement par un sarcolemme constitué par des cellules conjonctives chargées d'un pigment mélanique auquel est due l'intense coloration noire

de ce muscle. Les fibres musculaires lisses, transversales et longitudinales qui composent la gaine musculaire du tentacule sont des éléments fusiformes et allongés de type axial, c'est-à-dire à sarcoplasme nucléé central et substance fibrillaire contractile périphérique.

Du point de vue histochimique, le muscle rétracteur se caractérise par sa grande richesse en glycogène et par l'absence de ribonucléines pyroninophiles et de phosphatases alcalines.

Les cellules de Leydig tapissent la face interne du muscle rétracteur et forment un épais manchon autour du ganglion olfactif. Ces cellules, dont la taille peut atteindre 30 microns et parfois même davantage, sont ovoïdes et leur volumineux noyau contient une chromatine en grains grossiers et un grand nucléole à inclusion réfringente; leur cytoplasme est bourré de granulations acidophiles et sidérophiles et est particulièrement riche en ribonucléines et en glycogène. YUNG et, plus récemment, DEMAL ont considéré ces cellules comme sécrétrices; puisqu'il s'agit en fait de cellules de Leydig, il semble plutôt que ces éléments doivent être regardés comme des cellules de réserve ayant en outre un rôle dans l'élimination des déchets (fig. 4).

L'artère tentaculaire a une paroi très mince composée d'une couche unique de cellules très plates dont les noyaux sont allongés et dont le cytoplasme contient du glycogène et du calcium et peu ou pas de phosphatase alcaline.

Organes et nerfs sensoriels.

Les organes olfactifs comportent : en position distale, les lobules olfactifs, en position médiane le ganglion olfactif et, enfin, proximale le nerf olfactif (voir fig. 2 et 3).

Les lobules olfactifs, décrits pour la première fois par DEMAL, résultent de la juxtaposition des cellules olfactives sous-épidermiques; ces cellules

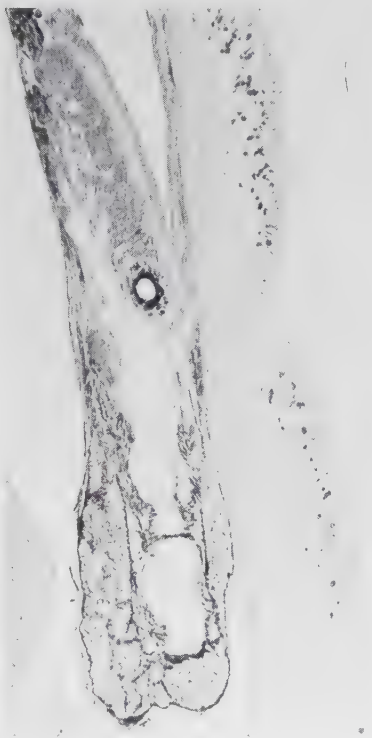


Fig. 3. — *Arion*; coupe longitudinale d'un tentacule oculaire en rétraction. Carnoy; vert de méthyle-pyronine.

sont du type caryochrome; leur cytoplasme, riche en ribonucléines, est réduit à une simple pellicule périnucléaire; leur noyau est très chromatique et on ne peut généralement pas y déceler de nucléole.

Le ganglion olfactif comporte une région corticale formée par des cellules ganglionnaires à noyau volumineux et cytoplasme basophile assez abondant, et une masse fibrillaire centrale, le neuropile, riche en phosphatases alcalines et en glycogène.

Le nerf olfactif fait suite au ganglion olfactif; les fibres nerveuses qui le constituent contiennent en abondance des phosphatases alcalines et du glycogène.

L'œil (fig. 5) est situé à la partie distale du tentacule, il est hypoder-

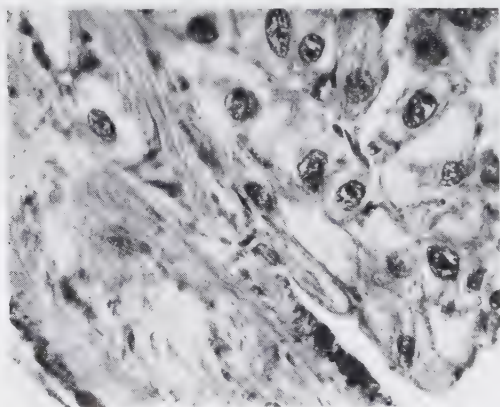


FIG. 4.

Arion; détail d'une coupe de tentacule oculaire intéressant le muscle rétracteur (en bas et à gauche du cliché) et les cellules de Leydig (en haut et à droite); remarquer la très grande taille de ces dernières cellules. Flemming; Feulgen et picro-indigo-carmin.

mique et de forme globuleuse; il mesure de 200 à 250 microns chez *Agrion* et légèrement plus chez *Arion*; comme chez tous les Stylommato-phores, il s'agit d'un œil simple à vésicule dans lequel on distingue, en coupe sagittale, les éléments suivants :

La cornée occupe le tiers antérieur de l'œil; elle est formée par un épithélium à cellules prismatiques dont les noyaux sont refoulés vers la périphérie. La réaction de Hotchkiss complétée par le test à la maltase, montre que les cellules de la cornée contiennent un produit Hotchkiss positif différent du glycogène.

La rétine est très épaisse vers le fond de l'œil et s'amincit progressivement vers l'avant au voisinage de la cornée; elle représente les 2/3 postérieurs du globe oculaire; on y trouve 3 catégories de cellules : des cellules pigmentaires, des cellules visuelles que l'on qualifie parfois d'incolores par opposition aux cellules pigmentaires et des cellules ganglionnaires.

Les cellules pigmentaires sont subconiques; presque droites vers le fond de l'œil, elles s'incurvent progressivement vers l'avant; ces cellules

présentent une zone distale chargée de granules pigmentaires et une zone proximale dépourvue de pigment, où se trouve le noyau. Outre leur rôle de soutien, elles ont pour fonction essentielle d'arrêter la lumière par leur pigment.

Les cellules visuelles sont encastrées entre les cellules pigmentaires et masquées en grande partie par celles-ci; le volumineux noyau des cellules visuelles est entouré d'un cytoplasme très riche en ribonucléines et en glycogène; du côté central, les fibres nerveuses émises par les cellules visuelles se réunissent en arrière de l'œil et constituent le nerf optique; les prolongements distaux font saillie dans la chambre oculaire et sont, en somme, les fibres sensorielles de la rétine ou « bâtonnets » de certains auteurs. La rétine d'*Arion* et *Agriolimax* est donc du type vertie puisqu'elle est constituée de cellules visuelles dont l'extrémité sensible est directement impressionnée par la lumière incidente.

Les cellules ganglionnaires sont situées dans la région la plus proximale de la rétine; leurs axones se réunissent en arrière de l'œil et, avec les prolongements proximaux des cellules visuelles, constituent le nerf optique; elles présentent les mêmes caractères histochimiques que les cellules visuelles (cytoplasme riche en glycogène et en ribonucléines).

Le nerf optique, qui résulte de l'union des fibres nerveuses centripètes émanées des cellules visuelles et ganglionnaires de la rétine, est riche en phosphatases alcalines et en glycogène.

Le cristallin est formé par une substance homogène de type vitreux et sans structure cellulaire; il prend énergiquement tous les colorants acides et est fortement carminophile; il contient un glucide Hotchkiss positif qui est du glycogène.

Ainsi que le montre cette description et la figure 5, l'œil à vésicule des Gastéropodes Pulmonés ressemble assez à l'œil cérébral des Vertébrés; cependant, en dépit d'un plan architectural assez voisin, il existe une différence fondamentale : sa rétine est directe et non pas inversée comme chez ceux-ci; on sait que dans une rétine directe la lumière frappe les cellules visuelles avant d'arriver aux fibres nerveuses, alors que c'est le contraire dans le cas de la rétine inversée des Vertébrés. Une autre différence très importante se manifeste déjà dès le développement embryonnaire : la rétine vertie d'*Arion* et *Agriolimax*, comme celle, même inversée (*Pecten*), de tous les invertébrés pourvus d'yeux, provient d'une invagination ectodermique directe constituée par de véritables cellules sensorielles primaires, tandis que chez les Vertébrés la partie visuelle de l'œil provient d'une évagination cérébrale et est partie constituante du cerveau.

La masse cérébroïde comporte 2 ganglions unis entre eux par la commissure sus-œsophagienne. Chaque ganglion présente respectivement 3 régions : la région antérieure au procérébrum est nettement distincte des autres, elle est formée par une épaisse couronne de cellules caryochromes

et par une masse fibrillaire centrale; la région médiane ou mésocérébrum se confond insensiblement, avec la région postérieure ou postocérébrum, en une masse unique comportant une zone corticale de cellules nerveuses de grande taille entourant une masse médullaire interne. A la limite du procérébrum et du mésocérébrum existe un hile qui correspond à la naissance ou à l'aboutissement des 4 nerfs du tentacule.

A l'extrémité antérieure du procérébrum se trouve une formation dont

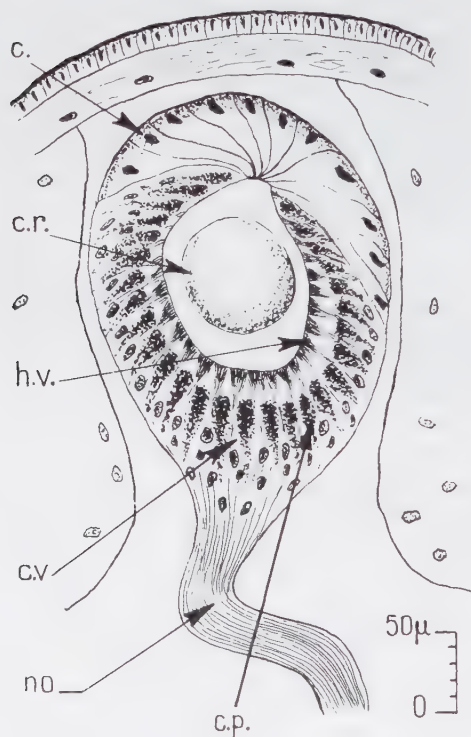


FIG. 5.

Histologie de l'œil. *c.*, cor-
née; *cr.*, cristallin; *h. v.*,
humeur vitrée ou « bâ-
tonnets »; *c. v.*, cellules
visuelles; *c. p.*, cellules
pigmentaires; *n. o.*, nerf
optique.

les cellules, assez semblables à celles qui constituent le procérébrum, s'en distinguent cependant, car elles sont assez souvent en mitoses et s'agencent en une vésicule close délimitant une cavité qui contient une substance colloïde plus ou moins colorable selon les réactions utilisées (voir fig. 6 et 7). Il est probable que cette cavité est un reste de celle de l'invagination ectodermique ou tube cérébral qui donne naissance au procérébrum (voir chapitre III). Cette formation, qui a été observée en premier lieu par PELSENEER (1900) dans les ganglions cérébroïdes des Basommatophores, a été récemment retrouvée par SANCHEZ et BORD (1958) chez les jeunes d'*Helix aspersa*. Ces deux auteurs considèrent cette vésicule comme transitoire et comme étant à l'origine des éléments neurosécréteurs du cerveau

qui dériveraient donc directement de cette formation. En 1960, VAN MOL reprend, chez *Arion rufus*, l'étude de cette vésicule qu'il nomme « glande céphalique »; d'après cet auteur, cette glande, étroitement accolée au procérébrum mais de nature non nerveuse, joue un rôle important dans la croissance; en effet, d'après les observations de VAN MOL, cette formation, d'abord bien développée, élabore une sécrétion colloïde jusqu'aux approches de la puberté, puis se résorbe ensuite progressivement et presque totalement à l'issue de la période de reproduction.

Les sujets utilisés au cours de ce travail, qu'il s'agisse d'*Arion rufus* ou d'*Agriolimax agrestis*, étaient tous des jeunes en pleine phase de crois-

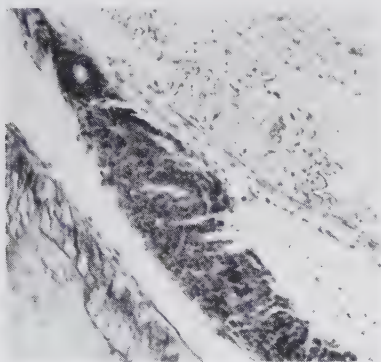


FIG. 6.

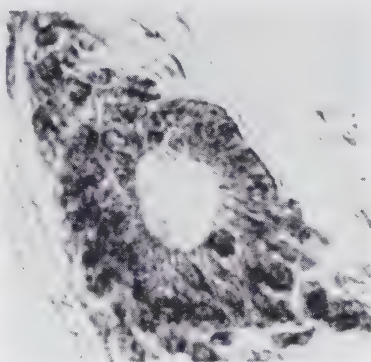


FIG. 7.

FIG. 6. — *Arion*; vue d'ensemble du procérébrum montrant la position de la glande céphalique (en haut et à gauche). Carnoy; vert de méthyle-pyronine.

FIG. 7. — *Arion*; détail de la coupe précédente montrant la glande céphalique agencée en vésicule; remarquer une mitose au centre. Carnoy; vert de méthyle-pyronine.

sance, aussi cette formation a-t-elle été observée de façon constante chez ces 2 espèces; elle a, en outre, été trouvée chez *Oncidiella celtica*; il semble donc que cette « glande céphalique » accolée au procérébrum, et dont le rôle n'est pas encore pleinement élucidé, soit assez répandue chez les Gastéropodes Pulmonés.

De plus, certaines observations, notamment celles effectuées au cours de l'étude de la dégénérescence nerveuse (voir chapitre IV), semblent confirmer l'opinion du VAN MOL, selon laquelle cette formation vésiculaire accolée au procérébrum n'est pas nerveuse et ne contracte avec cette région du ganglion cérébroïde que des relations de pur voisinage; en effet, ainsi qu'on le verra plus loin, l'amputation du tentacule oculaire provoque dans le procérébrum du ganglion cérébroïde correspondant l'apparition de divers phénomènes de dégénérescence nerveuse, prouvant qu'il existe une association nerveuse entre ces 2 organes; par contre, cette même ablation

tentaculaire ne détermine aucun processus dégénératif au niveau de cette formation glandulaire.

Le *neurilème* constitue une double gaine enveloppant les organes et les nerfs sensoriels, ainsi d'ailleurs que tout le système nerveux. La première gaine est directement au contact avec le tissu nerveux, elle est constituée par un tissu de texture fibreuse parsemé de petits noyaux allongés et chromatiques et constitue la névroglie proprement dite. Cette première enveloppe est elle-même entourée par une deuxième gaine de nature conjonctive formée de grandes cellules, les cellules périneurales, à noyau excéntrique et dont le cytoplasme contient en quantité notable des lipides osmio-philés, des granulations calcaires, du glycogène, des ribonucléines et un pigment mélanique. De plus, comme on le verra plus loin, les cellules périneurales sont douées d'athrocytose pour les colorants vitaux (voir fig. 43).

Seuls, les caractères histochimiques saillants des tissus tentaculaires sont mentionnés dans le texte qui précède. Les caractères négatifs ont volontairement été passés sous silence pour éviter une énumération fastidieuse. Pour les détails de cette étude histochimique on se reportera donc au tableau récapitulatif (tableau I).

TABLEAU I
HISTOCHIMIE DU TENTACULE OCULAIRE

Tissus tentaculaires		Produits décelés					
		A. R. N.	Glyco- gène	Produits Hotchkiss positifs autres que le Glycogène	Phos- phatases alcalines	Calcium	Lipides osmio- philes
Epiderme		+	+	Cellules à mucus + Cuticule +	Cuti- cule +	—	—
Couche dermo-musculaire..		+	+			—	+
Muscle rétracteur		—	+++	—	—	—	—
Cellules de Leydig.....		+++	±	—	—	—	+
Œil.	Rétine	++	++	—	—	—	+
	Cornée	±	—	++	—	—	—
	Cristallin	—	—	++	—	—	—
	Nerf optique	—	+	—	+++	—	—
Organes olfactifs.	Lobules olfactifs.....	++	++	—	—	—	+
	Cellules ganglionnaires.	++	++	—	—	—	+
	Neuropile	—	+	—	+++	—	—
	Nerf olfactif	—	+	—	+++	—	—
Névroglie		+	++	—	—	+++	+

6. — MALFORMATIONS SPONTANÉES DU TENTACULE OCULAIRE

Au cours de ces recherches, l'élevage d'*Arion rufus* L. et d'*Agriolimax agrestis* L. a été pratiqué chaque année sur une très grande échelle, sur plusieurs milliers de limaces de ces 2 espèces dont l'éclosion a été obtenue au laboratoire, 7 sujets (4 *Arion* et 3 *Agriolimax*) présentaient une même malformation des tentacules oculaires.

Alors que chez les limaces normales, ainsi que chez tous les Stylommatophores, les tentacules oculaires sont des formations paires et symétriques situées de part et d'autre de la masse bucco-pharyngienne, chez les sujets anormaux dont il est question ici, les tentacules oculaires sont unis dans le plan médian de la tête en une formation impaire rappelant une trompe (fig. 8 et 9). L'étude histologique (fig. 10) montre qu'il y a fusion des gaines tégumentaires des deux tentacules, complétée dans certain cas par celle des muscles rétracteurs; cette union respective des gaines tégumentaires et musculaires en un fourreau unique détermine le rapprochement des organes sensoriels tentaculaires, ce rapprochement n'allant jamais jusqu'à la fusion de ces organes, du moins chez 7 sujets étudiés à cet égard; il s'agit donc de cas spontanés de synrhinie et de synophthalmie.

Certains auteurs ont déjà observé des malformations des tentacules oculaires chez les Gastéropodes Pulmonés. MOQUIN-TANDON (1851) mentionne l'existence de tentacules bifides chez *Clausilia bidens*, *Physa acuta* et *Planorbis contortus*, ainsi qu'un cas de tentacule bioculé chez *Helix kermorvani*. YUNG (1904) a observé quelques malformations des tentacules oculaires chez *Helix pomatia*; il signale notamment 3 cas de développement inégal des tentacules, le tentacule le plus petit mesurant seulement la moitié ou le tiers du tentacule normal; YUNG cite quelques autres anomalies tentaculaires chez *Helix*, notamment plusieurs cas de tentacules plus ou moins curvilignes, un cas de tentacule bifide, une extrémité de la fourche portant l'œil et l'autre le ganglion olfactif et, enfin, un cas de tentacule à sommet très aigu, dépourvu d'œil et pouvant seulement se con-

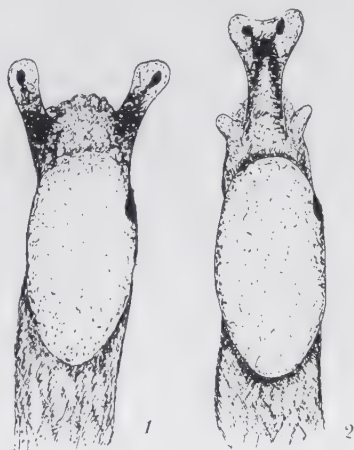


FIG. 8, 1 et 2. — Morphologie des tentacules oculaires.

1. *Arion rufus* normal.

2. *Arion rufus* synophthalme.

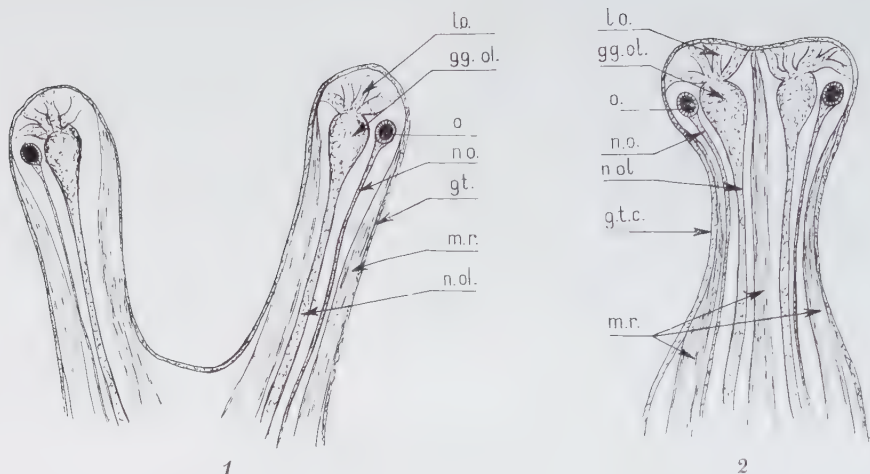


FIG. 9, 1 et 2. — Anatomie des tentacules oculaires.

1. *Arion rufus* normal. — 2. *Arion rufus* synophthalmic.

l. o., lobes olfactifs; *gg. ol.*, ganglion olfactif; *o.*, œil; *n. o.*, nerf optique; *n. ol.*, nerf olfactif; *g. t.*, gaine tégumentaire; *g. t. c.*, gaine tégumentaire commune; *m. r.*, muscle rétracteur.



FIG. 10.

Agriolimax; tentacule oculaire unique d'une limace synophthalmic; tous les organes (œil, ganglion olfactif et muscle rétracteur) sont encore pairs, mais réunis dans une gaine tégumentaire commune. Bouin : hémalum-éosine.

tracter mais non s'invaginer, à la façon des tentacules pleins des Basommatophores.

La synophthalmie est une anomalie tentaculaire très rarement mentionnée. Il semble qu'Hoffmann (1912) ait été le premier à décrire cette malformation chez *Helix nemoralis* L. et *Helix pomatia* L.; en 1930, ROTA

RIDES cite à son tour un cas de synophtalmie chez *Helix pomatia* L. D'après mes propres observations, cette anomalie tentaculaire se produirait pour- tant avec une certaine fréquence, du moins chez *Arion rufus* L. et *Agrioli- max agrestis* L. Les cas de synophtalmie spontanée notés ici sont à rap- procher des malformations tentaculaires provoquées expérimentalement par RAVEN (1947) chez *Lymnæa stagnalis* L. en utilisant l'action tératogène de l'ion lithium. A l'aide de solutions lithinées, RAVEN a en effet obtenu une série de malformations graduées allant de la synophtalmie à l'anoph- talmie, en passant par la cyclopie et résultant de la fusion plus ou moins complète, voire même de la disparition totale, des ébauches oculaires.

L'étude histologique des embryons anormaux obtenus expérimentale- ment par RAVEN et son école a montré que les malformations observées résultaient d'une réduction (synophtalmie), d'une suppression (cyclopie et anophtalmie) et, dans certains cas, d'un dédoublement (triophtalmie) de la plaque apicale.

Il est donc vraisemblable que les cas de synophtalmie notés chez *Arion* et *Agriolimax* sont attribuables également à une réduction notable, mais ici spontanée, de la plaque apicale survenue à un moment donné du développement embryonnaire.

III. — DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE DU TENTACULE OCULAIRE

1. — HISTORIQUE

Les travaux sur l'organogenèse des organes des sens et du système nerveux des Gastéropodes sont si nombreux qu'il est pratiquement impossible d'analyser chacun d'eux; seules les publications les plus marquantes sont résumées ici.

BOBRETZKY (1877) est le premier à utiliser la méthode histologique pour étudier la formation du système nerveux chez quelques Gastéropodes Prosobranches (*Nassa*, *Natica*, *Fusus*). En ce qui concerne *Fusus*, BOBRETZKY reconnaît bien que les organes des sens dérivent d'épaississements ou d'invaginations de l'ectoderme, mais il pense que les ganglions cérébroïdes et pédieux proviennent du mésoderme. Les recherches de BUTCHLI (1877) aboutissent aux mêmes conclu- sions chez *Paludina vivipara*.

Les observations de FOL (1880) sur la formation des ganglions cérébroïdes et des organes sensoriels chez *Arion* et *Limax* sont plus précises que celles de ses prédécesseurs; il résulte des travaux de FOL que, chez ces 2 Stylommatophores, les ganglions cérébroïdes proviennent d'invaginations ectodermiques distinctes et symétriques; ces invaginations s'approfondissent puis se séparent de l'ecto- derme; ultérieurement, les ébauches des ganglions cérébroïdes sont réunies par une commissure. Les rudiments des tentacules oculaires sont représentés par 2 mamelons ectodermiques symétriques par rapport à la masse buccale; dans la région postérieure de chaque ébauche tentaculaire apparaît une invagination ectodermique qui est à l'origine de l'œil.

HENCHMAN (1890) reprend l'analyse du développement embryonnaire du système nerveux central chez *Limax maximus*. Cet auteur est le premier à mettre l'accent

sur le fait que l'on doit distinguer 2 régions dans le ganglion cérébroïde : une région centrale qui constitue la majeure partie de ce ganglion et qui est formée par la condensation de cellules émigrées de l'ectoderme, et une région externe dérivant d'une invagination ectodermique formée de petites cellules; en s'approfondissant, cette invagination va à la rencontre de la partie centrale du ganglion cérébroïde, constituée par des cellules plus grosses. L'invagination ectodermique, qui est à l'origine de la région externe ou « lobe accessoire » du ganglion cérébroïde, reste en communication avec l'extérieur pendant plusieurs jours par un canal étroit, d'où le nom de « tube cérébral » que certains auteurs (P. et F. SARASIN, 1886-1888) ont donné à cette formation. En ce qui concerne le développement des organes sensoriels tentaculaires, HENCHMAN n'apporte pas d'éléments nouveaux.

SCHMIDT (1895) précise et complète les résultats de HENCHMAN; il montre que chez les Stylomatophores « les plaques sensorielles » situées de part et d'autre de la masse buccale sont des formations ectodermiques importantes d'où dérivent les 3 paires de tentacules ainsi que les 2 régions des ganglions cérébroïdes (partie interne par prolifération et partie externe par invagination).

Les recherches de MEISENHEIMER (1898) sur le développement embryonnaire de *Limax maximus* confirment les résultats obtenus précédemment par FOL, HENCHMAN et SCHMIDT chez plusieurs Stylomatophores.

PELSENEER (1900), étudiant l'organogenèse du système nerveux des Gastéropodes Pulmonés, insiste particulièrement sur l'évolution de la région antérieure du ganglion cérébroïde ou procérébrum. Il résulte des observations de PELSENEER que le procérébrum prend naissance à partir d'une invagination ectodermique qui se produit au niveau des plaques sensorielles; cette invagination, ou tube cérébral, reste assez longtemps en communication avec l'extérieur et ne se sépare de l'ectoderme que peu de temps avant l'éclosion; chez les Stylomatophores, la cavité embryonnaire du tube cérébral s'oblitére totalement, tandis que chez les Basomatophores cette cavité est persistante. En conclusion, l'auteur pense qu'il convient d'homologuer les tubes cérébraux des Gastéropodes Pulmonés aux organes nucaux des Annélides ainsi que les Sarasins avaient déjà tenté de le faire.

CARRICK (1938) publie une étude détaillée sur le développement embryonnaire d'*Agriolimax agrestis*, au cours duquel il distingue plusieurs stades morphologiques correspondant à l'apparition des caractères externes saillants. Les 6 étapes discernées par CARRICK au cours du développement d'*Agriolimax* sont les suivantes (fig. 11) :

1. Blastula.
2. Gastrula.
3. Différenciation des rudiments du corps et du manteau.
4. Différenciation des rudiments des tentacules et du podocyste.
5. Développement maximum du podocyste et de la vésicule céphalique.
6. Régression de la vésicule céphalique, atrophie du podocyste et avènement de la forme adulte.

Cette subdivision en stades constitue un repère commode étant donné le manque d'uniformité dans la durée du développement qui varie selon les pontes et les saisons. En ce qui concerne la formation du système nerveux, le travail de CARRICK est assez succinct et n'apporte pas d'éléments nouveaux relativement à ses prédécesseurs.

RAVEN (1958), dans un traité récent, effectue une mise au point bibliographique des travaux réalisés jusqu'à ce jour sur le développement embryonnaire des Mollusques; une partie de cet ouvrage est consacrée aux résultats obtenus par l'auteur

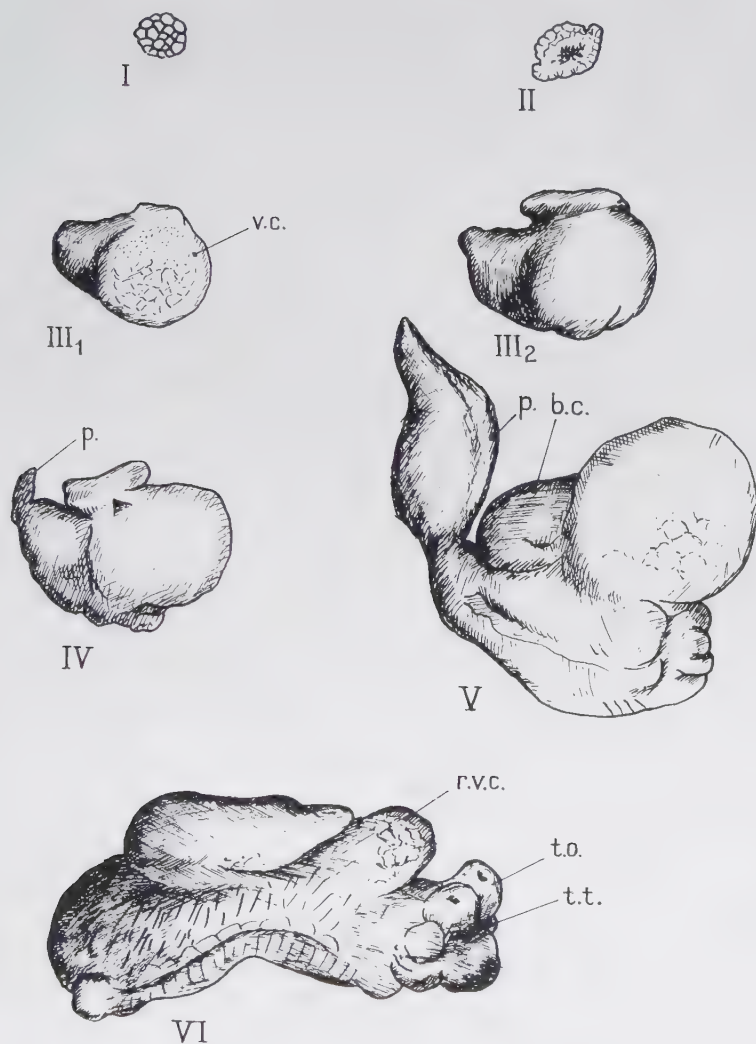


FIG. 11. — Principaux stades du développement embryonnaire d'*Agriolimnax agrestis*. (D'après CARRICK.)

v. c. vésicule céphalique; e. p., ébauche du podocyste; p., podocyste; b. c., bouclier céphalique; t. o., tentacule oculaire; t. t., tentacule tactile; r. c. v., reste de la vésicule céphalique. Les fixations ont été commencées au stade III₂.

et son école chez *Lymnæa stagnalis*. Après avoir étudié en détail le développement normal de l'œuf de *Lymnæa stagnalis* à l'aide de techniques histochimiques modernes, RAVEN et ses élèves ont réussi à modifier expérimentalement le développement de certains organes; utilisant l'action tératogène de l'ion lithium, ils observent en effet de nombreux cas de synophtalmie, de cyclopie et d'anophtalmie et prouvent que ces malformations résultent d'un rétrécissement plus ou

moins important de la plaque apicale pouvant entraîner dans les cas extrêmes un raccourcissement de la commissure sus-œsophagienne.

Cette analyse bibliographique montre que les travaux consacrés au développement du système nerveux des Gastéropodes Pulmonés sont tous assez anciens et traitent presque uniquement de la formation des ganglions nerveux proprement dits; la part qui revient dans ces travaux à l'ontogenèse des organes sensoriels tentaculaires est très réduite et d'ordre purement topographique (HENCHMAN, SCHMIDT, PELSENEER, CARRICK) ou bien se résume à des données d'ordre expérimental se rapportant aux seuls Basommatophores (RAVEN).

Il était donc nécessaire de préciser topographiquement et, surtout, d'étudier histochimiquement les traits caractéristiques de l'ontogenèse normale des organes sensoriels tentaculaires d'*Arion rufus* et *Agriolimax agrestis* avant d'entreprendre parallèlement, par les mêmes techniques, l'étude de l'histogenèse régénérative de ces organes.

2. — ETUDE PERSONNELLE

A. — Technique.

Les embryons qui ont servi à cette étude proviennent de pontes datées obtenues au laboratoire à partir de limaces recueillies dans la nature au moment de la maturité sexuelle (voir chapitre I). Plutôt que de fixer l'œuf entier, ce qui aurait interdit l'usage des fixateurs gélifiant irréversiblement l'albumine, il a paru préférable d'extirper les embryons vivants de l'œuf à l'aide d'aiguilles montées. De cette façon, on a toute latitude pour le choix des fixateurs et on obtient de meilleures fixations.

Les embryons fixés par les liquides de Flemming, Gendre et Carnoy, et par l'alcool, ont été déshydratés et inclus selon la méthode de Peterfi et débités en coupes sériées de 10 microns en vue de la détection de l'acide thymonucléique, du glycogène, des ribonucléines pyroninophiles et des phosphatases alcalines par des techniques histochimiques appropriées contrôlées par les tests convenables (voir chapitre I). Cette étude porte sur environ 200 embryons des 2 espèces de limaces envisagées ici.

B. — Morphologie de l'embryon.

Le développement des Gastéropodes Pulmonés est direct, Il n'y a donc pas de stades larvaires libres et les différentes étapes du développement se déroulent toutes à l'intérieur de l'œuf; aucune fixation n'a été effectuée au cours des tout premiers stades embryonnaires (segmentation, gastrulation et formation des feuillets), car cette étude dépassait de beaucoup le but recherché en entreprenant ce travail. Chez *Agriolimax* les prélèvements ont commencé le 6^e jour après la ponte et chez *Arion*, dont le développement est plus lent, à partir du 9^e jour seulement. Chez les premiers embryons sacrifiés et pour les 2 espèces envisagées, on reconnaît déjà morphologiquement les annexes embryonnaires (vésicule céphalique et

podocyste) si caractéristiques des embryons de Pulmonés Stylommatophores qui sont déjà en place et assez développées. La vésicule céphalique est située dorsalement par rapport à la masse buccale; vers le milieu de la période d'incubation, elle devient à elle seule aussi volumineuse que le reste du corps; à l'approche de l'éclosion, elle est englobée peu à peu par le bouclier céphalique (partie antérieure du manteau) et s'incorpore à la

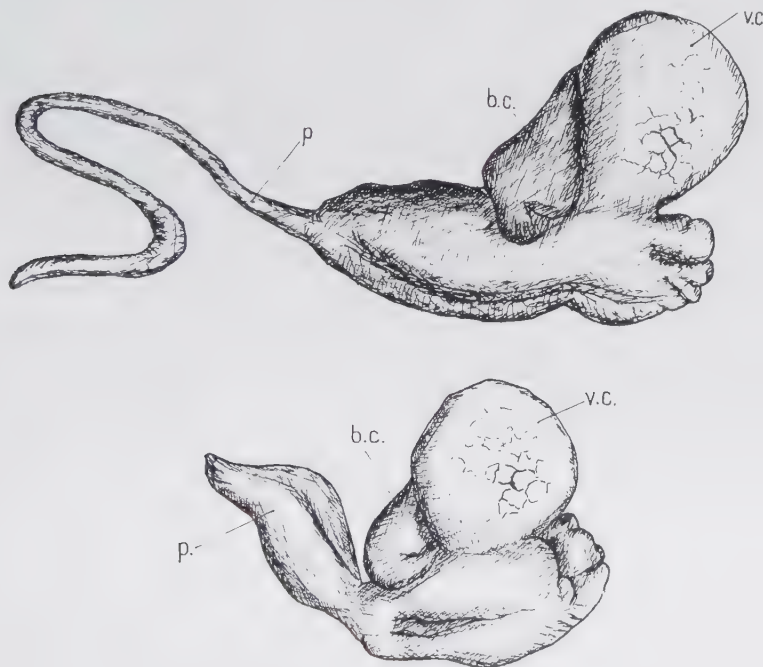


FIG. 12. — *En haut* : embryon d'*Arion rufus* de 20 jours, remarquer le très long podocyste.

En bas : embryon d'*Agriolimax agrestis* de 8 jours, le podocyste est foliacé. p. podocyste; b. c., bouclier céphalique; v. c. vésicule céphalique.

glande digestive. Le podocyste situé à l'extrémité postérieure de l'embryon est une expansion du pied; il s'agit en fait d'une formation vésiculeuse animée de pulsations rythmiques et servant à la circulation embryonnaire. Vers le milieu du développement, le podocyste atteint lui aussi un développement considérable; chez *Arion* (fig. 12), c'est un organe très mince et extrêmement long, pouvant atteindre jusqu'à une fois et demie la longueur de l'embryon, tandis que chez *Agriolimax* (fig. 12) cette formation est beaucoup plus large et moins longue et prend un aspect foliacé; chez les embryons âgés, le podocyste régresse progressivement puis disparaît totalement au moment de l'éclosion.

C. — *Etude topographique et histochimique de la morphogénèse des organes sensoriels tentaculaires* (fig. 13, 14, 15, 16, 17 et 18).

Qu'il s'agisse d'*Arion* ou d'*Agriolimax*, le développement des organes sensoriels tentaculaires présente une parfaite similitude; la seule différence sensible réside dans la durée de ce développement qui est bien



FIG. 13.

Arion, embryon de 10 jours; coupe intéressant l'une des plaques céphaliques et la vésicule optique non encore isolée; remarquer les gros nucléoles à inclusion réfringentes des noyaux des cellules ectodermiques. Flemming : Feulgen. Photo prise au microscope à contraste de phase.

moindre chez *Agriolimax* que chez *Arion*; aussi, seuls les faits observés chez *Arion* seront décrits ici afin d'éviter des répétitions.

Chez *Arion*, le 9^e jour après la ponte coïncide avec l'apparition des organes sensoriels; à ce moment, dans une coupe transversale de la région céphalique, on distingue, de part et d'autre de la masse buccale déjà bien individualisée, 2 aires ectodermiques épaissies et symétriques, les plaques céphaliques. Vers le 10^e jour, chaque plaque céphalique se subdivise en 3 régions distinctes, l'une labiale, l'autre tactile, et la troisième tentaculaire; seule la destinée de la région tentaculaire, la plus externe des trois

par rapport à la masse buccale, sera étudiée ici, car c'est d'elle que dérive le tentacule oculaire et le ganglion cérébroïde.

L'œil est le premier à apparaître, du 10^e au 11^e jour; il se forme à la base de l'ébauche tentaculaire et dérive d'une invagination de l'ectoderme (fig. 13) dont il s'isole rapidement; primitivement et pendant 1 ou 2 jours, les cellules de la vésicule optique semblent équivalentes et contribuent toutes à la sécrétion du cristallin qui résulte en somme de la coalescence et de la gélification des gouttelettes fluides émises par ces cellules (fig. 14). Par la suite, les éléments de la vésicule optique se différencient antérieu-

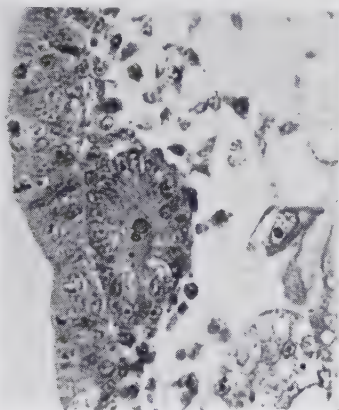


FIG. 14.

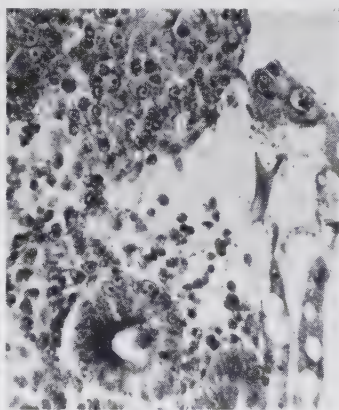


FIG. 15.

FIG. 14. — *Arion*, embryon de 11 jours; coupe intéressant l'un des champs tentaculaires ainsi que la vésicule optique déjà isolée de l'ectoderme; au centre de la vésicule optique, remarquer 4 petites sphérules inégales qui se réuniront ultérieurement pour former le cristallin. Flemming; Feulgen.

FIG. 15. — *Arion*, embryon de 13 jours; remarquer le début de la pigmentation de la rétine vers le fond de l'œil; vers le haut se trouve l'ébauche du ganglion cérébroïde; les noyaux des cellules de cette ébauche, ainsi que ceux des cellules de l'ébauche optique, possèdent de gros nucléoles au niveau desquels la réaction de Gomori est positive.

rement en cellules cornéennes et postérieurement en cellules visuelles et pigmentaires. La pigmentation de la rétine s'amorce vers le fond de l'œil aux environs du 13^e jour (fig. 15) et gagne progressivement les côtés; le nerf optique, émanation des cellules visuelles et des cellules ganglionnaires du fond de l'œil, se réunit secondairement au ganglion cérébroïde.

Les lobules olfactifs et le ganglion olfactif commencent à se former aux environs du 13^e jour et proviennent du champ tentaculaire des plaques céphaliques par immigration et prolifération; progressivement, les cellules immigrées s'agencent en lobules et ganglion olfactifs (fig. 16 et 17) et émettent des fibres nerveuses dont la réunion constitue le nerf olfactif

qui rejoint le procérébrum du ganglion cérébroïde dont il reçoit aussi quelques fibres.

Le ganglion cérébroïde provient d'une double ébauche (fig. 18) :

La région interne (mésocérébrum et postcérébrum), qui représente la plus grande partie de ce ganglion, résulte de la prolifération et de la concentration de cellules ectodermiques immigrées des plaques céphaliques aux environs du 11^e jour.

La région externe, ou procérébrum, apparaît sensiblement au même moment; elle a pour origine une large invagination ectodermique, le tube

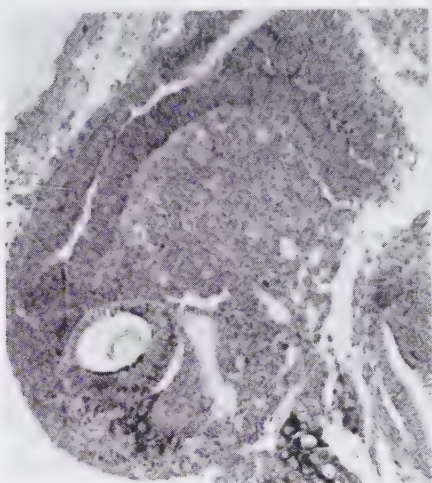


FIG. 16.

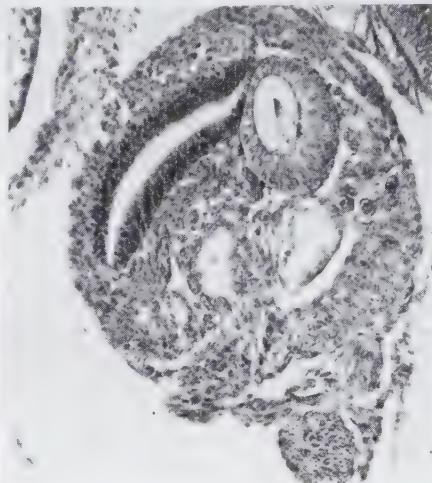


FIG. 17.

FIG. 16. — *Arion*, embryon de 19 jours; l'œil est presque parfaitement différencié et les cellules olfactives sont agencées en lobules; c'est le moment de la fibrillogenèse, caractérisé par une pyroninophilie intense des neuroblastes. Carnoy; vert de méthyle-pyronine.

FIG. 17. — *Arion*, embryon de 21 jours; approximativement le même stade que ci-dessus mais après réaction de Hotchkiss.

cérébral, qui apparaît à la base des champs tentaculaires vers le 11^e jour et qui reste largement ouverte pendant plusieurs jours; du 15^e au 17^e jour, le tube cérébral s'approfondit sensiblement; vers le 19^e jour, il se sépare de l'ectoderme et s'applique alors contre l'ébauche de la partie interne du ganglion cérébroïde. Contrairement à ce qu'on décrit beaucoup d'auteurs, le canal du tube cérébral ne se comble pas totalement, mais subsiste sous la forme d'une petite cavité délimitée par une vésicule close située dans la région la plus externe du procérébrum et encore observable chez des *Arion* âgés de plusieurs mois (voir chapitre II). Les cellules nerveuses des ganglions cérébroïdes présentent déjà leur position périphérique et les

masses fibrillaires, toujours centrales, commencent à se différencier du 11^e au 13^e jour.

Les 2 ganglions ont une origine distincte, ce n'est que secondairement qu'ils sont réunis par la commissure cérébroïde qui se forme vers le 17^e jour.

Les faits révélés par l'analyse histochimique du développement embryonnaire des yeux, des organes olfactifs et des ganglions cérébroïdes permettent de distinguer 4 phases au cours de l'ontogenèse de ces organes:

— Une phase de synthèse précède l'apparition des organes sensoriels. Durant cette période, qui s'étend approximativement du 8^e au 11^e jour,

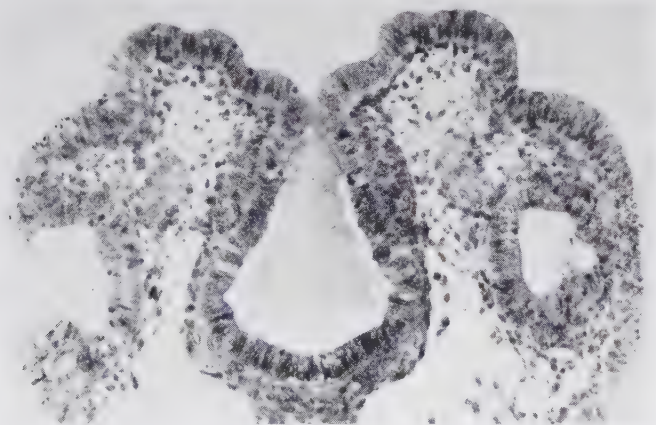


FIG. 18. — *Arion*, embryon de 11 jours; au centre, la région buccale; latéralement, 2 invaginations ectodermiques symétriques, les tubes cérébraux, qui sont à l'origine du procérébrum; entre la région buccale et les tubes cérébraux, 2 petits massifs cellulaires correspondant chacun à l'ébauche de la partie interne de l'un des ganglions cérébroïdes, c'est-à-dire au méso et au postcérébrum. Flemming; Feulgen.

l'ectoderme des plaques céphaliques se présente comme un feuillet à caractère épithélial où les mitoses sont rares et dont les noyaux, pauvres en chromatine, sont pourvus d'un gros nucléole à sphérule réfringent (fig. 13); la pyroninophilie, importante pour les nucléoles, n'est que médiocre pour les cytoplasmes; la réaction de Gomori est nette au niveau des nucléoles et de la chromatine et nulle pour les cytoplasmes (fig. 15); enfin, l'absence de glycogène indique une consommation importante de ce produit.

— Une deuxième phase se situe au moment de la mise en place des ébauches sensorielles et nerveuses (du 11^e au 14^e jour); les mitoses deviennent alors beaucoup plus fréquentes, il s'ensuit une raréfaction progressive des noyaux à gros nucléoles et à sphérules réfringents; la pyroninophilie s'accroît, mais de nucléolaire devient cytoplasmique; la glycolyse des

tissus intéressés est particulièrement intense et la réaction de Gomori n'est positive qu'au niveau des chromosomes et des nucléoles (fig. 15).

— Lors de la fibrillogenèse (fig. 16 et 17), qu'il s'agisse des fibres nerveuses ou musculaires, s'instaure une troisième phase qui s'étend approximativement du 14^e au 21^e jour, et durant laquelle le taux des mitoses s'abaisse. Simultanément, la pyroninophilie cytoplasmique des cellules sensorielles s'accroît, les synthèses protidiques étant particulièrement intenses au moment de l'émission des fibres nerveuses, le glycogène réapparaît progressivement et la réaction de Gomori est positive au niveau des fibres nerveuses nouvellement formées. Les mêmes caractères histochemiques, mais moins accentués cependant, se retrouvent dans les bourgeons musculaires au moment de la genèse des fibres lisses.

— Du 21^e jour à l'éclosion se situe une 4^e phase, durant laquelle se parfait la différenciation cellulaire; on note alors la cessation des mitoses, la diminution très nette de la teneur en ribonucléines et de la consommation du glycogène ainsi que la localisation des phosphatases alcalines uniquement au niveau des fibres nerveuses. En somme, plus l'éclosion est proche, plus la répartition des divers produits histochemiques dans les tissus tentaculaires des embryons âgés s'identifie avec celle que l'on observe dans le tentacule normal des jeunes.

Les résultats obtenus au cours de cette étude histochemique sont consignés dans le tableau II.

D. — *Discussion des résultats et conclusions.*

Certains des résultats acquis au cours de cette étude appellent une discussion.

En ce qui concerne les nucléoles à sphérules réfringentes observés dans les noyaux des cellules des plaques céphaliques, il convient d'insister sur le fait que leur présence précède de peu l'avènement de la morphogénèse des organes sensoriels, donc coïncide avec une période de synthèse intense pour les cellules ectodermiques. Plusieurs auteurs (RAVEN, 1946; GABE et PRENANT, 1949; ARVY, 1950; FRANC, 1951) ont déjà observé et décrit des nucléoles structurés dans les noyaux des ovocytes d'assez nombreux Mollusques (Polyplacophores, Scaphopodes, Gastéropodes : Prosobranches, Opisthobranches, Pulmonés), notamment durant la phase de grand accroissement de l'ovocyte. Ces inclusions nucléolaires caractérisent donc les cellules effectuant des synthèses protidiques importantes, et leur présence au sein du nucléole doit être considérée comme l'indice de l'intervention de cet organite au cours de ces synthèses.

La présence d'une activité phosphomonoestérasique, révélée par la réaction de Gomori au niveau des nucléoles et des noyaux, mérite également d'être discutée, l'existence de la phosphatase alcaline nucléaire étant très controversée. Précisons tout d'abord que, d'une part, la mise en œuvre de

TABLEAU II

ETUDE HISTOCHIMIQUE DU DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE DU TENTACULE OCULAIRE D'*Arion*

Réactions histochimiques	Elapes du développement			
	I Synthèse du 8 ^e au 10 ^e jour	II Morphogénèse du 11 ^e au 14 ^e jour	III Différenciation du 14 ^e au 21 ^e jour	IV Normalisation du 21 ^e jour à l'éclosion
Réaction de Feulgen.....	Noyaux pauvres en chromatine, mais à gros nucléoles à in- clusions réfringentes. Quelques mitoses.	Mitoses ++.	Mitoses +	Mitoses ±, puis —.
Vert de méthyle-pyronine...	Nucléoles ++.	++	++	Même répartition que dans le tentacule normal (voir ta- bleau I).
Réaction de Ilotchiss.....	—	—	+	Même répartition que dans le tentacule normal (voir ta- bleau I).
Réaction de Gomori (phos- phatases alcalines)	+ nucléaire et nucléolaire.	+ nucléaire et nucléolaire.	++ fibres nerveuses nouvellement émises. + bourgeons muscu- laires.	Même répartition que dans le tentacule normal (voir ta- bleau I).

tests appropriés permet d'affirmer avec sécurité que la réaction positive observable au niveau des noyaux et des nucléoles de l'ébauche tentaculaire est bien due à la présence de phosphatases alcalines et que, d'autre part, il ne peut s'agir ici de diffusion puisque les tissus voisins ne contiennent pas encore de trace de cette enzyme. Il résulte des travaux de CHÈVREMENT (1952) que la phosphatase alcaline est nécessaire à la synthèse de la chromatine et intervient dans le transfert et la fixation des phosphates. Utilisant l'action inhibitrice du béryllium sur la phosphomonoestérase 1, CHÈVREMENT obtient une diminution très nette de la croissance des cultures de tissus due à des anomalies de la mitose. Les observations cytologiques de cet auteur prouvent que sous l'action du béryllium, la télophase ne se produit pas : toute mitose amorcée aboutit en fin de compte à la reconstitution d'une cellule unique, la cytodièrese n'ayant pas lieu. On peut donc déduire des expériences de CHÈVREMENT que la phosphatase alcaline nucléaire et nucléolaire joue un rôle de premier plan dans la mitose.

En conclusion, l'étude topographique et histochimique du développement embryonnaire du tentacule oculaire d'*Arion rufus* et *Agriolimax agrestis* fait ressortir les faits suivants :

Au cours de l'ontogenèse, il y a origine directe soit par invagination, soit par immigration et prolifération cellulaire de l'œil, de l'organe olfactif et du ganglion cérébroïde à partir de l'ectoderme des champs tentaculaires. Les nerfs olfactif et optique résultent de la réunion des fibres nerveuses émises par les cellules de leur organe sensoriel correspondant; ces nerfs sont donc essentiellement centripètes.

Le comportement histochimique des tissus en cause au cours du développement embryonnaire du tentacule montre le rôle important joué par les acides nucléiques, la phosphatase alcaline et le glycogène tout au long de l'histogenèse. Il se dégage notamment une relation très nette entre la morphogenèse, la richesse en ribonucléines, la présence de phosphatases alcalines nucléaires et nucléolaires et la glycolyse élevée. Tous ces faits sont en accord avec les travaux de BRACHET qui ont particulièrement mis en relief l'existence de liens étroits entre la morphogenèse, la synthèse des protéines et l'utilisation des sucres.

IV. — RÉGÉNÉRATION DU TENTACULE OCULAIRE

1. — HISTORIQUE

SPALLANZANI découvrit en 1764 que les escargots étaient capables de « régénérer leur tête » ; cette nouvelle excita au plus haut degré la curiosité des savants de l'époque, zoologistes ou non, et donna lieu à des controverses passionnées; il en résulta une véritable vogue pour les expériences sur la décapitation des Mollusques. VOLTAIRE lui-même s'intéressa à ce phénomène de la régénération et se

livra à des amputations de la tête chez les limaçons et les « limaces incoques », mais les résultats positifs qu'il obtint ne parurent pas convaincants, l'expérimentateur n'étant pas supposé « être rompu aux méthodes de la bonne histoire naturelle » (Questions sur l'Encyclopédie, 1771).

A la suite d'expériences négatives, plusieurs auteurs infirmèrent les résultats publiés par SPALLANZANI; WARTEL (1767), VALMONT DE BOMARE (1768), ADANSON (1768) et COTTE (1768 à 1773).

En même temps, plusieurs expérimentateurs obtinrent cependant des résultats positifs : VOLTAIRE (1768), SCHAEFFER (1768) et MÜLLER (1778).

Les travaux de LAVOISIER puis, plus tard, ceux de TARENNE (1806) firent enfin admettre la possibilité de la régénération céphalique chez les « limaçons ».

MOQUIN-TANDON (1851) entreprit de nouvelles expériences d'amputation sur des *Helix nemoralis*; il montra que les résultats contradictoires publiés par ses prédécesseurs provenaient de l'importance inégale des parties réséquées, la régénération de la région antérieure de la tête étant possible à condition qu'il n'y ait pas eu lésion du collier œsophagien (sous le nom de collier, l'auteur désigne l'ensemble de la masse cérébroïde).

CARRIÈRE (1890) reprit à son tour les expériences de SPALLANZANI. Il prouva que l'œil d'*Helix* régénère à partir de l'épithélium extérieur et selon le même procédé que chez l'embryon (invagination), cette régénération ne pouvant se produire qu'en présence de la masse cérébroïde intacte. CARRIÈRE fut, en outre, frappé par le manque d'uniformité dans la durée de la régénération oculaire; malheureusement, il n'étudia pas la régénération des autres constituants du tentacule.

Les travaux de CZERNY (1907) sur *Limax arborum* et de TECHOW (1911) sur *Arion empiricorum* et *Limax maximus* confirmèrent les résultats acquis par leurs prédécesseurs.

HANKO (1914) nota que chez *Nassa mutabilis* la régénération des tentacules est très rapide; il observa en effet des yeux régénérés et déjà pigmentés 12 à 15 jours après l'intervention. Il fut le premier à pratiquer des ablations successives et obtint toujours une nouvelle régénération.

KÖNIG (1915) expérimenta sur *Arion empiricorum*. Il établit que la régénération oculaire est indépendante du ganglion olfactif et des nerfs olfactif et optique, mais il ne put expliquer la régénération des autres constituants tentaculaires, et notamment des organes olfactifs.

NONNE (1925) obtint chez *Tachea hortensis* la régénération de l'œil en l'absence du ganglion cérébroïde correspondant. D'après cet auteur, le système nerveux n'aurait qu'une action quantitative sur la régénération oculaire.

Enfin, ABELOOS, dans une courte note (1942), admet que chez les Gastéropodes la régénération de chaque organe céphalique n'est possible que dans la limite d'un territoire tégumentaire déterminé, dont l'ablation complète provoque l'absence définitive de l'organe correspondant.

En résumé, si l'on excepte les travaux les plus anciens, dont le seul but était de mettre hors de doute la découverte de SPALLANZANI, les recherches consacrées à la régénération tentaculaire chez les Gastéropodes Pulmonés décrivent uniquement la morphologie et l'anatomie du tentacule déjà régénéré, voire même de l'œil seul. Ou bien alors le problème de la régénération est envisagé sous un aspect très particulier : influence du système nerveux, étendue du territoire de régénération.

Ces diverses recherches entre autres n'apportent aucune donnée sur les phénomènes histologiques et histochimiques qui caractérisent la régénération tentaculaire, notamment durant les stades initiaux, totalement négligés jusqu'ici; enfin, personne ne s'est attaché à résoudre le problème fondamental de l'origine des tissus régénérés. J'ai donc repris cette question en m'efforçant de combler ces lacunes.

2. — ETUDE PERSONNELLE

A. — *Observations préliminaires.*

Seule l'étude de la régénération après ablation partielle du tentacule est l'objet de ce quatrième chapitre. L'ensemble des résultats exposés ici porte sur plus de 300 sujets pour *Arion* et plus de 100 pour *Agriolimax*. Toutes les interventions ont été pratiquées au même moment de l'année (printemps) sur des limaces nées au laboratoire :

- de même âge;
- élevées dans les mêmes conditions;
- soumises à des résections équivalentes du tentacule oculaire gauche, le tentacule droit étant toujours conservé comme témoin.

La réunion de ces facteurs a paru importante et a permis de vérifier que l'irrégularité de la régénération, considérée comme la règle par la majorité des auteurs, provenait en fait de l'absence de l'une ou de plusieurs de ces conditions. En effet, tout au long de ce travail, partant de lots homogènes, soumis aux mêmes conditions d'élevage et d'expérimentation, les mêmes stades de régénération ont très généralement été retrouvés le même nombre de jours après l'amputation (voir tableau III).

En outre, une relation semble exister entre la durée de la croissance et celle de la régénération : on sait en effet que la croissance d'*Agriolimax* est environ 3 fois plus rapide que celle d'*Arion*; or, ainsi qu'en témoigne le tableau III, le même rapport se retrouve au cours de la régénération tentaculaire qui, chez *Agriolimax*, est effective 15 à 20 jours après l'amputation, et chez *Arion* nécessite de 40 à 60 jours.

Enfin, la saison interfère également sur la durée de la régénération qui est très retardée lorsque les expériences sont effectuées en plein hiver (même observation pour le développement embryonnaire, cf. chapitre III).

Avant de fixer les régénérats, les progrès de leur évolution ont été suivis au binoculaire. Cette observation sur le vivant, effectuée uniquement chez *Agriolimax*, est facilitée par la section de la partie libre du bouclier céphalique qui a tendance à masquer la région antérieure de l'animal. Alors que l'étude histologique ultérieure conduira à distinguer 4 stades fondamentaux au cours de la régénération du tentacule oculaire (voir tableau III), l'examen sur le vivant au binoculaire permet seulement de discerner 3 étapes morphologiques :

— Les premiers jours après l'intervention, les bords de la plaie se rétractent et se trouvent rapprochés au fond d'une dépression. Au niveau du ganglion cérébroïde, on observe par transparence, sous le tégument, le bout proximal tentaculaire resté en place. Cette première étape morphologique correspond, en fait, aux deux premiers stades histologiques (cicatrisation et phase de latence du blastème).

— 8 à 10 jours après l'opération, les limaces déploient déjà un petit

régénérat en forme de cône déprimé en son centre. Ce cône de régénération présente une teinte beaucoup plus claire que celle du tentacule témoin; le bout proximal tentaculaire garde toujours le même aspect. L'étude histologique, menée parallèlement, confirme qu'à ce stade le muscle rétracteur n'est pas encore restauré; cependant, l'extension du régénérat est déjà possible. Ce fait montre le rôle capital de l'afflux sanguin lors du déploiement du tentacule.

— Une quinzaine de jours après l'amputation, le tentacule régénéré atteint à peu près la moitié de la longueur du tentacule témoin et possède déjà un œil régénéré et pigmenté. Pendant encore quelque temps, le tentacule néoformé conserve une teinte plus claire que le tentacule témoin.

On retrouve les mêmes étapes morphologiques au cours de la régénération chez *Arion*, mais avec des délais plus importants.

TABLEAU III

Etapes morphologiques	Stades histologiques	Temps en jours chez <i>Arion</i>	Temps en jours chez <i>Agriolimax</i>
Première étape.	1. Cicatrisation.	1 à 4	Premières heures.
	2. Phase de latence, puis de synthèse.	4 à 12	1 à 4
Deuxième étape.	3. Croissance du blastème.	12 à 30	4 à 10
Troisième étape.	4. Différenciation des organes sensoriels, élongation du régénérat et retour à la normale.	30 à 60	10 à 20

B. — Les faits consécutifs à l'ablation.

1° LA DÉGÉNÉRESCENCE NERVEUSE (fig. 19 à 29).

La dégénérescence nerveuse chez les Vertébrés est bien connue grâce aux nombreux travaux qu'elle a suscités. Chez les Invertébrés, le seul travail à signaler sur ce sujet est celui de LEGENDRE (1906) qui décrit des modifications dans les cellules nerveuses d'*Helix pomatia* après asphyxie par immersion; il signala notamment des phénomènes de dégénérescence rétrograde (chromatolyse et caryolyse) et l'intervention de cellules névrogliques dans ces processus. La dégénérescence consécutive à la section des nerfs ainsi que l'interférence possible de cette dégénérescence avec la régé-

nération nerveuse n'a donc été l'objet d'aucune recherche chez les Invertébrés et tout particulièrement chez les Mollusques. Aussi, à la lumière des faits connus chez les Vertébrés, il a paru intéressant d'étudier la dégénérescence nerveuse résultant de l'ablation tentaculaire chez *Arion* et *Agriolimax*. Après la résection partielle du tentacule, on laisse en place une petite partie des nerfs péritentaculaires et des nerfs sensoriels (olfactif et optique); c'est dans le bout proximal de ces nerfs ainsi que dans le lobe sensoriel du ganglion cérébroïde ou procérébrum qu'apparaissent des phénomènes de dégénérescence, contemporains de la cicatrisation et de la régénération tentaculaire, se déroulant selon le même processus chez *Arion* que chez *Agriolimax* et se traduisant par d'importantes modifications histologiques.

Si l'on se réfère aux faits connus chez les Vertébrés, on distingue au cours de la dégénérescence nerveuse 3 phénomènes distincts :

— *La dégénérescence primaire* est une altération banale liée au traumatisme lui-même et localisée uniquement au point de section. Lorsque les fibres nerveuses sectionnées subissent seulement la dégénérescence primaire, comme c'est le cas pour les nerfs péritentaculaires d'*Arion* et *Agriolimax*, on peut affirmer qu'il s'agit de fibres centrales.

— *La dégénérescence secondaire*, contrairement à la dégénérescence primaire, est une nécrose généralisée qui atteint en même temps et avec la même intensité tous les points d'un nerf traumatisé. Les nerfs qui subissent la dégénérescence secondaire, c'est ce qui se produit dans le bout proximal des nerfs olfactif et optique d'*Arion* et *Agriolimax*, sont, par définition, des nerfs périphériques.

— *La dégénérescence rétrograde* consiste en altérations plus ou moins importantes des péricaryons; la section d'un nerf peut donc retentir à distance sur les cellules d'origine des fibres nerveuses gravement lésées. C'est ainsi que chez *Arion* et *Agriolimax*, après l'ablation du tentacule oculaire, les phénomènes de dégénérescence rétrograde surviennent dans certaines cellules caryochromes du procérébrum.

Il est donc possible de déterminer avec certitude la nature des fibres nerveuses traumatisées et parfois même de localiser les cellules originelles de ces fibres par l'étude des phénomènes de dégénérescence; parmi ces phénomènes, ceux de dégénérescence primaire ont volontairement été laissés de côté, ne présentant pas d'intérêt particulier dans le cadre de la régénération tentaculaire; par contre, ceux de dégénérescence secondaire et rétrograde ont été étudiés en détail.

a. *La dégénérescence secondaire* est la première à se manifester; il s'agit essentiellement de la nécrobiose des fibres olfactives et optiques avec l'intervention de cellules macrophages; ce processus d'autolyse s'accompagne, en outre, d'importantes modifications du métabolisme du glycogène et des lipides :

Les premiers prélèvements effectués quelques heures après la résection

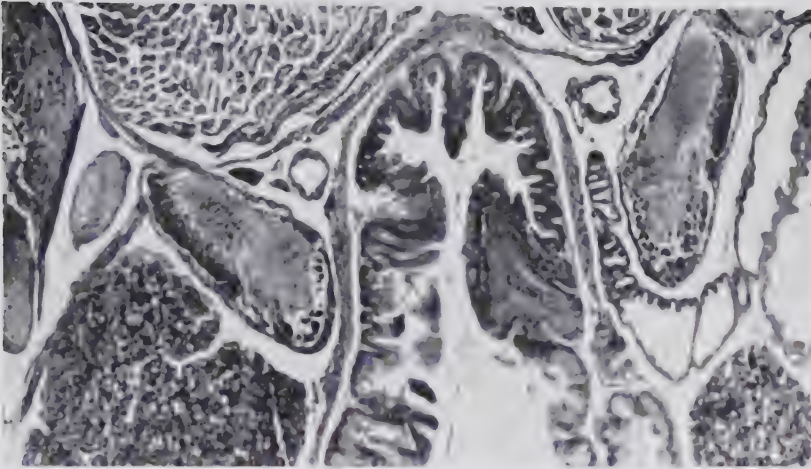


FIG. 19. — *Arion*, 10 jours après l'ablation; vue d'ensemble de la région céphalique : au centre l'œsophage, à droite le ganglion cérébroïde témoin, et à gauche le ganglion cérébroïde lésé; dans le neuropile du procérébrum de ce dernier, remarquer la présence de nombreux macrophages. Gendre; réaction de Hotchkiss.

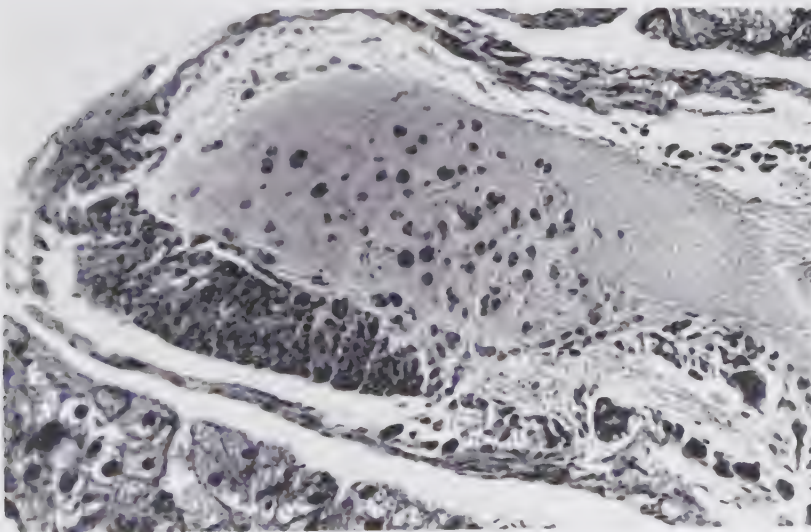


FIG. 20. — *Arion rufus*, 8 jours après l'ablation. Vue d'ensemble du ganglion cérébroïde lésé montrant l'envahissement du neuropile de procérébrum par macrophages bourrés d'inclusions glycogéniques. Gendre; réaction de Hotchkiss, hématoxyline de Groat et picro-indigo-carmin.

tentaculaire révèlent déjà une infiltration de macrophages parmi les fibres nerveuses lésées; ces macrophages sont des cellules amiboïdes d'assez grande taille (environ 20 microns), douées de phagocytose pour la plupart des produits dégénératifs et dont le noyau excentrique, plus ou moins lobé, est peu dense en chromatine.

Les premiers jours après l'ablation du tentacule la réaction de

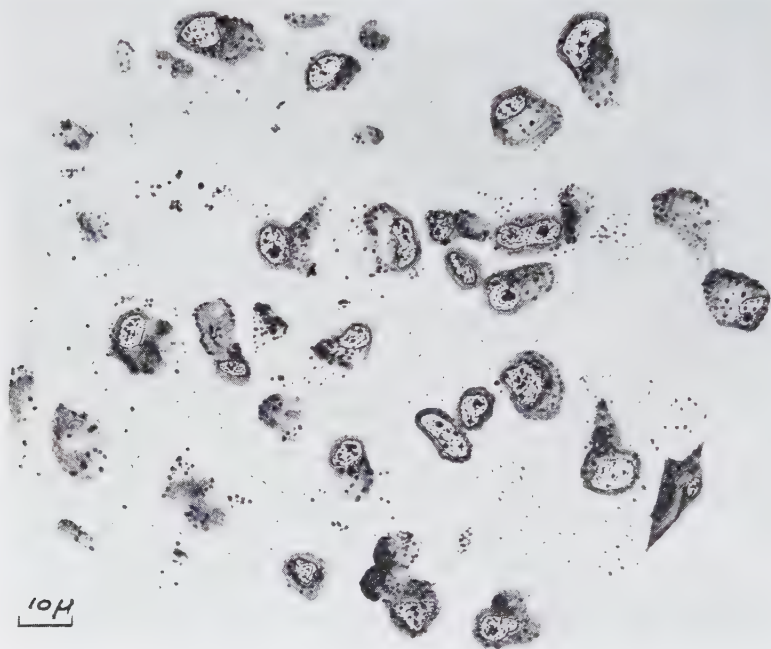


FIG. 21. — *Arion rufus*, 10 jours après l'ablation. Coupe passant par le neuropile du procérébrum lésé et montrant, à un fort grossissement, l'aspect des macrophages après réaction de Hotchkiss.

Hotchkiss-Mc Manus met en évidence une accumulation anormale de glycogène dans les fibres nerveuses traumatisées (fig. 19, 20, 21 et 22).

Ceci est particulièrement net dans le neuropile du procérébrum d'*Arion* et au niveau du nerf olfactif, dans lesquels on peut observer dès le 3^e jour de nombreux macrophages bourrés de glycogène qui présente tout d'abord un aspect homogène, puis se fragmente peu à peu et disparaît brusquement grâce au pouvoir de glycolyse élevée de ces cellules. C'est ainsi que chez *Arion*, 15 jours après l'ablation, il n'y a plus trace de glycogène dans les fibres lésées qui ne contiennent plus alors que des macrophages à cytoplasme Hotchkiss négatif.

Les modifications du métabolisme du glycogène, consécutives à la section des nerfs, sont connues depuis longtemps déjà chez les Vertébrés;

BERTRAND (1930) a particulièrement insisté sur les importantes variations subies par la répartition de ce produit dans les nerfs et les centres nerveux lésés. Il en est bien de même chez *Arion* et *Agriolimax*.

Peu après, de profonds changements du métabolisme des lipides sont révélés par la méthode de Marchi. Cette méthode, créée par MARCHI (1886) pour l'étude des dégénérescences myéliniques secondaires chez les Vertébrés, permet de déceler des lipides osmiophiles dans le neuropile du procérébrum et dans les bouts proximaux olfactif et optique. Chez *Agrio-*

FIG. 22.

Arion, 14 jours après l'amputation; coupe intéressant les bouts olfactif (à droite) et optique (à gauche) dégénérés; remarquer, au sein des fibres nerveuses, des macrophages contenant encore quelques inclusions glycogéniques. Gendre: réaction de Hotchkiss



limax par exemple, espèce chez laquelle les phénomènes de dégénérescence sont très rapides, on observe dès le 2^e jour l'apparition de lipides (fig. 23) dont la proportion croît constamment jusqu'au 8^e jour environ, puis diminue progressivement. La résorption des lipides osmiophiles par les macrophages semble se faire suivant un gradient allant du procérébrum vers la zone de section des nerfs. C'est ainsi que chez *Agriolimax*, vers le 8^e jour, le neuropile du procérébrum est presque totalement exempt de lipides osmiophiles alors que les nerfs en sont absolument criblés (fig. 24). Il est à remarquer que dans les nerfs sensoriels dégénérés les granulations lipidiques affectent généralement une disposition sériée, parallèle à l'axe des fibres nerveuses ponctuant ainsi leur trajet (fig. 25). Rappelons que seule la myéline dégénérée est susceptible de réduire le tétroxyde d'osmium dans les conditions techniques de la méthode de Marchi, la présence de chrome empêchant l'osmio-réduction par la myéline normale. Le fait que cette méthode nous ait donné des résultats positifs signifie que la dégé-



Fig. 1. A group of large, rounded cells with prominent nuclei, some of which are surrounded by smaller, darker cells, likely representing a tissue section stained with hematoxylin and eosin (H&E).

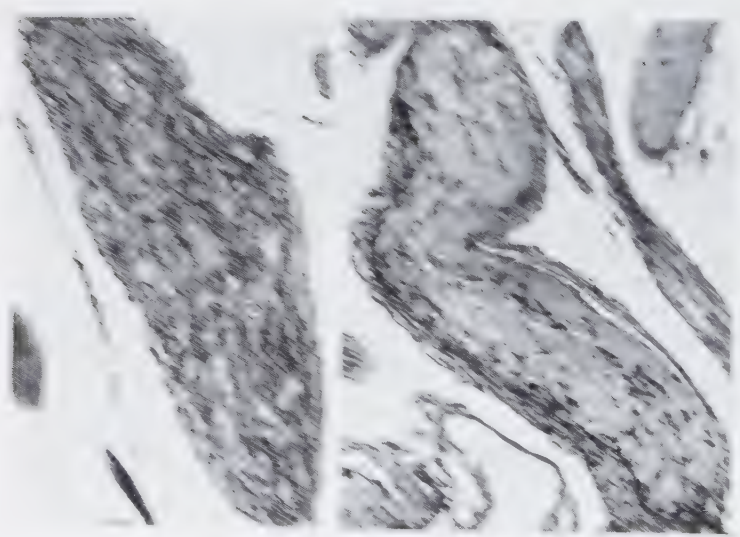


Fig. 2. Elongated, spindle-shaped cells with dense, granular cytoplasm, possibly representing a different tissue type or a different staining method.

The above figures illustrate the morphological characteristics of the cells observed in the tissue sections. The cells in Fig. 1 are large and rounded, while those in Fig. 2 are elongated and spindle-shaped. The staining used in Fig. 1 is hematoxylin and eosin (H&E), while the staining in Fig. 2 is likely a different method, possibly a special stain.

nérescence secondaire chez *Arion* et *Agriolimax* s'effectue selon les mêmes modalités que chez les Vertébrés et prouve, en outre, que les nerfs sensoriels des 2 espèces considérées contiennent de la myéline. JOBERT (1870) avait déjà signalé la présence de myéline dans le nerf tentaculaire d'*Helix*.

Une deuxième conclusion se dégage de ces observations : le fait que la section de la partie distale des nerfs olfactif et optique provoque non seulement la dégénérescence secondaire de leur bout proximal, mais encore celle de nombreuses fibres et cellules du procérébrum, prouve, d'une part, que les nerfs olfactif et optique ne naissent pas du procérébrum mais qu'ils s'y jettent et, d'autre part, que ce lobe du ganglion cérébroïde doit être considéré avant tout comme un centre sensoriel. Ceci confirme les résultats acquis par HANSTRÖM (1925) par la méthode de Golgi par laquelle il prouva qu'il existe « une union intime entre le neuropile du ganglion olfactif et celui du procérébrum ». A cette preuve histologique, HANSTRÖM ajoute un argument d'anatomie comparée, à savoir que le procérébrum est très développé chez les Pulmonés à tentacules perfectionnés (Stylomatophores dont le tentacule possède un volumineux ganglion olfactif), alors qu'il est rudimentaire chez les Pulmonés à tentacules plus simples (Basommatophores dont le tentacule est dépourvu de ganglion et possède seulement un nerf olfactif). DE NABIAS (1894) avait déjà amorcé un rapprochement entre le développement corrélatif de la région procérébrale et des organes sensoriels tentaculaires chez les Gastéropodes Pulmonés.

b. *La dégénérescence rétrograde* : le corps de certaines cellules caryochromes ne tarde pas à être, lui aussi, le siège d'altérations importantes observables du côté central du procérébrum.

La coloration au vert de méthyle-pyronine met en évidence, dans la masse médullaire du procérébrum, des granulations pyroninophiles de taille variable pouvant atteindre jusqu'à 1 micron de diamètre. Les préparations obtenues chez *Arion* sont particulièrement nettes. Chez cette espèce, 30 jours après l'opération, le neuropile du procérébrum est rempli de ces corpuscules pyroninophiles qui sont activement englobés par les macrophages (fig. 26); le laps de temps très restreint pendant lequel il est possible de détecter ces formations provient vraisemblablement de leur résorption active par ces cellules. La filiation exacte de ces granulations n'a pu être établie avec certitude; étant donnée leur affinité pour la pyronine, elles proviennent vraisemblablement des nucléoles ou des corps de Nissl; or, chez les Vertébrés, il a été démontré (MARINESCO, 1909) que la substance tigre et les nucléoles dégénérés ne sont pas phagocytés, mais sont frappés d'achromatose et de lyse progressive; il semble donc que, chez *Arion* et *Agriolimax*, la dégénérescence nerveuse, bien que se déroulant dans ses grandes lignes de la même façon que chez les Vertébrés, montre cependant quelques particularités.

Le terme ultime de la dégénérescence rétrograde consiste en une altération du noyau de certaines cellules caryochromes par caryolyse : les

noyaux deviennent d'abord moins colorables, puis il y a rupture de la membrane nucléaire et libération des grains de chromatine hors du noyau.

Chez *Agriolimax* par exemple, vers le 14^e jour, on peut observer du côté central du procérébrum, un liséré de grains de chromatine extra-nucléaires se détachant sur le neuropile, d'aspect homogène avec les colorations cytoplasmiques courantes (fig. 27). Contrairement aux autres produits dégénératifs, ces granulations caryolytiques ne sont pas englobées

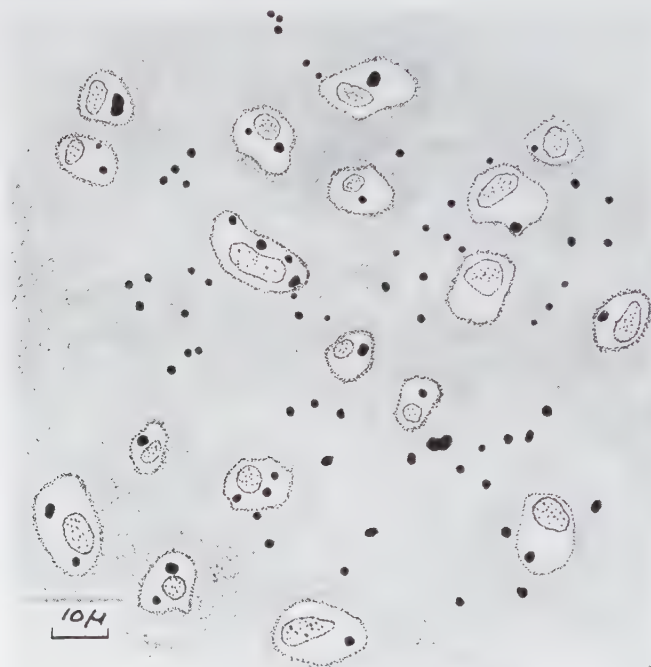


FIG. 26. — *Arion rufus*, 30 jours après l'amputation. Vue du neuropile du procérébrum lésé après coloration au vert de méthyle-pyronine montrant la résorption des corpuscules pyroninophiles dégénératifs par des macrophages dont le cytoplasme apparaît en négatif.

par les macrophages, mais une fois émises hors du noyau, elles disparaissent progressivement ainsi que cela a déjà été décrit chez les Vertébrés (MARINESCO). Le fait que certaines cellules caryochromes du procérébrum subissent la dégénérescence rétrograde après section des nerfs olfactif et optique prouve que les cellules affectées envoient leurs axones dans ces nerfs; il en résulte que, bien qu'essentiellement centripètes, ces 2 nerfs contiennent néanmoins quelques fibres centrifuges. Rappelons que HANS-TRÖM était arrivé à la même conclusion par la méthode de Golgi.

Enfin, chez *Arion*, espèce chez laquelle des prélèvements ont été effectués jusqu'au 80^e jour, les produits de dégénérescence ont à ce moment complè-

tement disparu et la seule anomalie encore observable est la persistance de macrophages qui semblent alors immobilisés au sein du neuropile.

En résumé, cette étude prouve l'existence de la neuronophagie chez les 2 Mollusques envisagés ici, notamment au cours de la dégénérescence secondaire durant laquelle les produits dérivant de la lyse des fibres nerveuses sont phagocytés et digérés par des cellules macrophages en tout point comparables aux corps granuleux de Glüge qui interviennent active-

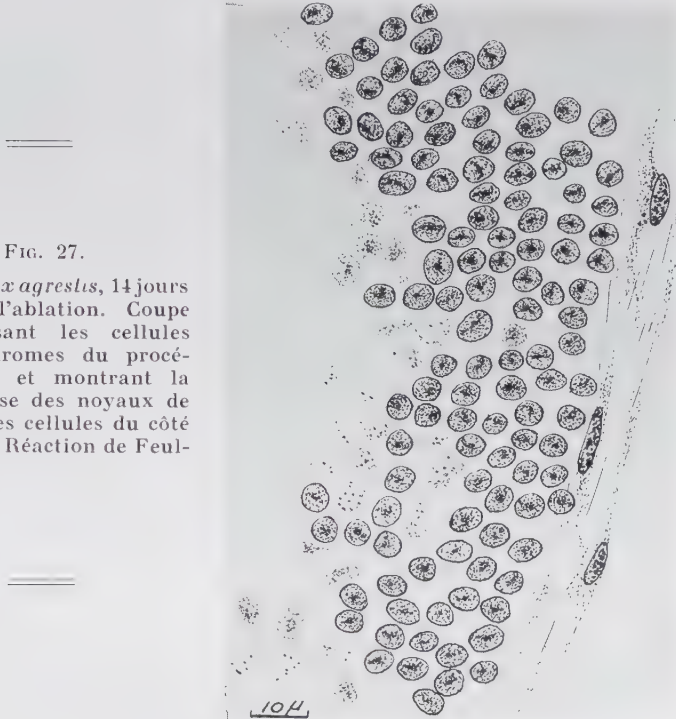


FIG. 27.

Agriolimax agrestis, 14 jours après l'ablation. Coupe intéressant les cellules caryochromes du procérébrum et montrant la caryolyse des noyaux de certaines cellules du côté central. Réaction de Feulgen.

ment dans les mêmes conditions chez les Vertébrés. Cependant, un point reste encore dans l'ombre, il s'agit de l'origine des macrophages qu'il est difficile d'établir avec certitude; étant données les grandes analogies qui existent entre les faits de dégénérescence nerveuse tels qu'ils sont connus chez les Vertébrés et ceux qui viennent d'être décrits, il semble justifié d'admettre que chez *Arion* et *Agriolimax* les macrophages proviennent de la névroglie comme c'est le cas pour les corps granuleux de Glüge chez les Vertébrés.

En même temps que ces phénomènes de dégénérescence, on observe au niveau des nerfs coupés une réaction de la névroglie (fig. 28 et 29). La gaine névroglie subit une hyperplasie qui aboutit à la formation d'une

cicatrice névroglie plus ou moins fibreuse et homologue du « gliome » qui se constitue chez les Vertébrés au cours de la dégénérescence wallérienne, et auquel un rôle important est reconnu dans la régénération nerveuse lorsqu'elle a lieu. En effet, on verra plus loin que, lors de la restauration des organes et des nerfs sensoriels, les fibres néoformées constitueront un névrome et suivront le chemin tracé par cette cicatrice névroglie. La névroglie joue donc un rôle histophysiologique important au cours de la dégénérescence et de la régénération nerveuse.

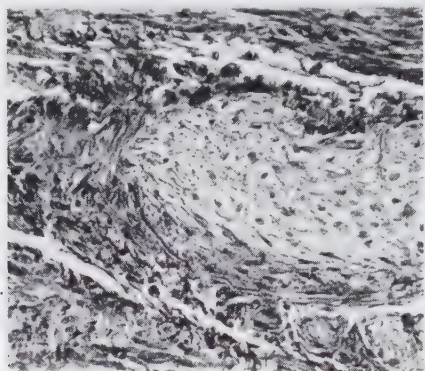


FIG.
28.

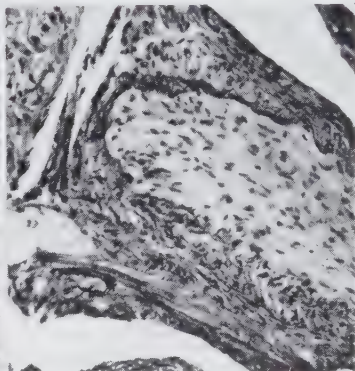


FIG.
29.

FIG. 28. — *Arion*, 12 jours après l'amputation; au centre et à droite, bout olfactif en dégénérescence; au centre et à gauche, gliome provenant d'une prolifération des cellules névrogliales. Gendre; réaction de Hotchkiss.

FIG. 29. — *Arion*, 35 jours après l'amputation; coupe intéressant le bout proximal olfactif et montrant l'aspect du gliome formé au niveau de ce nerf à ce moment-là. Gendre; réaction de Hotchkiss.

2° LA RÉGÉNÉRATION TENTACULAIRE

La régénération tentaculaire proprement dite a été étudiée surtout chez *Arion rufus* L. à cause de la lenteur de cette espèce à régénérer, ce qui permettait d'observer ce phénomène au ralenti et d'en mieux concevoir le déroulement. L'étude histologique et histochimique des régénérats nous a conduite à discerner 4 étapes au cours de la régénération tentaculaire chez *Arion* (voir tableau IV); notons que les quatre mêmes étapes se retrouvent au cours de la régénération chez *Agriolimax*, mais avec des délais moindres (voir tableau III).

a) La cicatrisation.

Presque immédiatement après l'amputation, la contraction des fibres musculaires de la couche dermo-musculaire sous-épidermique amorce un premier rapprochement des bords de la plaie déjà perceptible lors de l'observation sur le vivant.

Le repérage histologique de la plaie est assez facile car elle est délimitée par une zone de nécrose acidophile et Hotchkiss-positive; cette région est riche en lipides osmiophiles (il s'agit ici de produit de dégénérescence et non de réserve); on y rencontre, en outre, des pycnoses et des cellules macrophages chargées de résorber les déchets provenant de l'histolyse des cellules lésées. En même temps que ces phénomènes de dégradation débute la cicatrisation proprement dite qui résulte de 2 phénomènes simultanés : un étalement épidermique superficiel et une réaction conjonctive profonde.

L'étalement épidermique : dès les premières heures qui suivent l'abla-

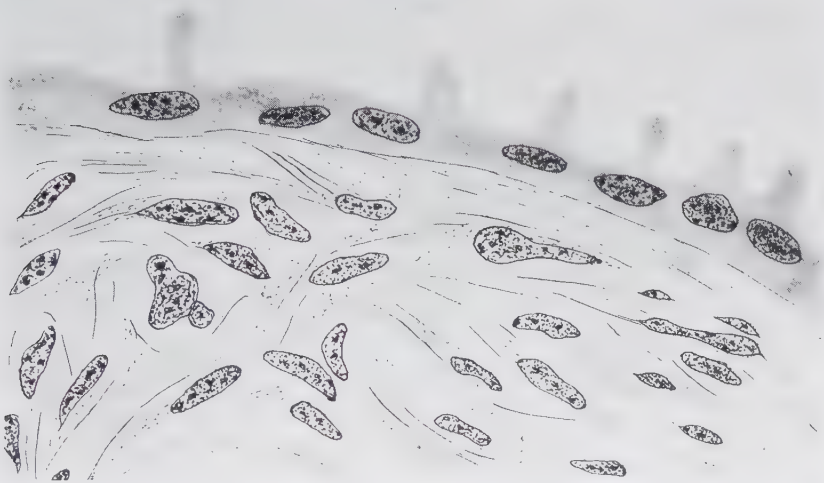


FIG. 30. — *Arion rufus*, 2 jours après l'ablation. Figure montrant les mouvements amiboïdes des cellules épidermiques lors de la cicatrisation. Flemming; Feulgen et picro-indigo-carmin.

tion tentaculaire, les bords de l'épiderme vont à la rencontre l'un de l'autre par suite de l'affaissement de l'épithélium cubique simple qui le constitue; les cellules épidermiques, grâce à leurs mouvements amiboïdes, s'arrachent de leur soubassement (basale) et s'étalent en formant un mince épithélium pavimenteux obturant la plaie (fig. 30 et 31). L'épithélium cicatriciel provient de l'épiderme uniquement par étalement, sans l'intervention de divisions nucléaires; en effet, grâce à la disposition pavimenteuse adoptée par les cellules épidermiques cicatricielles, un nombre relativement faible d'entre elles suffit à assurer la fermeture de la plaie sans le secours de mitoses. Cet étalement épidermique, qui s'effectue durant les premiers jours suivant l'ablation chez *Arion*, nécessite seulement quelques heures chez *Agriolimax*. Du point de vue histochimique, les réactions mises en œuvre ne font encore ressortir aucun caractère saillant au niveau de l'épiderme étalé.

La réaction sous-épidermique se produit simultanément en profondeur; il se constitue ainsi un massif cellulaire constitué par des éléments divers et résultant, en fait, de la condensation sous l'épithélium cicatriciel de cellules émigrées de la couche dermo-musculaire lésée et du moignon tentaculaire. Il s'agit notamment de cellules musculaires libérées de leurs fibrilles, de cellules de Leydig, de cellules conjonctives, de cellules névrogliques, d'éléments sanguins, de macrophages et d'histiocytes d'origine diverse (fig. 30 et 31). On aboutit ainsi à la formation d'un tissu hétérogène d'aspect syncytial et au niveau duquel les réactions histochimiques demeurent négatives, à l'exception de la réaction de Hotchkiss qui y révèle la présence de glycogène en quantité importante; ceci tient au fait que ce

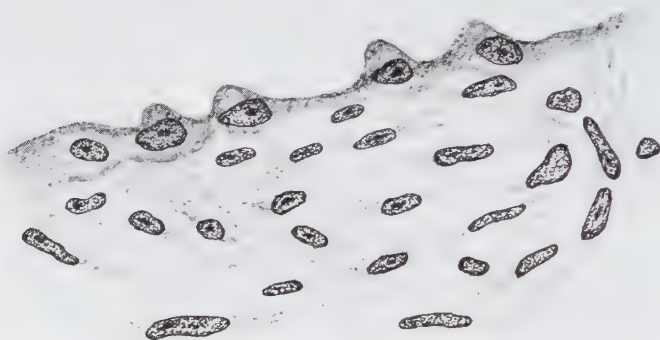


FIG. 31. — *Arion rufus*, 2 jours après l'ablation.
Cicatrisation de la plaie par étalement de l'épiderme.
Flemming; Feulgen et picro-indigo-carmin.

massif cellulaire se recrute à partir de tissus eux-mêmes riches en glycogène.

En somme, ce sont donc les tissus lésés qui assurent la cicatrization sans qu'il y ait multiplication de cellules. Ainsi, de très bonne heure, se trouvent mise en place 2 formations qui possèdent déjà leurs caractères propres, se distinguent des tissus dont ils proviennent et sont à l'origine des 2 feuillets du blastème de régénération :

- une région épidermique superficielle qui donnera l'exoblastème et
- une région mésenchymateuse sous-épidermique d'où dérivera l'endoblastème.

b) Latence : du 4^e au 12^e jour.

L'exoblastème : est encore constitué par un épithélium pavimenteux unistratifié dans lequel on n'observe toujours pas de mitoses et dont les caractères histochimiques ne varient que faiblement relativement au stade

précédent. On note cependant une augmentation de taille des nucléoles; de plus, le pôle apical des cellules de l'exoblastème devient Hotchkiss-positif et la coloration au vert de méthyle-pyronine révèle une légère augmentation de la basophilie cytoplasmique et nucléolaire, tandis que la réaction de Gomori demeure négative à leur niveau.

L'endoblastème comporte une région tégumentaire correspondant au massif cicatriciel sous-épidermique décrit au stade précédent et une région tentaculaire plus profonde constituée par un massif allongé réalisant, entre le reste du tentacule dont il provient et la région tégumentaire de l'endoblastème, une continuité cellulaire édifiée à partir d'éléments émigrés des tissus tentaculaires intéressés par la section (exception faite de l'épiderme et de la couche dermo-musculaire), c'est-à-dire : du muscle rétracteur et de sa gaine conjonctive pigmentée et de la névroglie. Le recrutement de l'endoblastème n'est pas la conséquence d'un simple bourgeonnement, mais il résulte d'une véritable refonte du moignon tentaculaire rétracté accompagné de phénomènes d'hystolyse et d'histogenèse :

En un premier temps, il y a histolyse des cellules musculaires gravement atteintes, dont les fibres dégèrent et les noyaux se pycnosent. Simultanément, les cellules pigmentaires de la gaine conjonctive du muscle rétracteur se transforment en macrophages et interviennent dans la résorption des débris cellulaires. Corrélativement, on note une diminution progressive du taux du glycogène et l'apparition de lipides osmiophiles dans le reste du muscle tentaculaire. Puis, des cellules musculaires indemnes, débarrassées de leurs fibres, se détachent du moignon et migrent dans la région distale; il se constitue ainsi en direction centrifuge, au sein d'une vaste lacune, un massif cellulaire très allongé réunissant le moignon au massif conjonctif cicatriciel sous-épidermique de formation plus précoce. Dans son ensemble, l'endoblastème se présente donc comme un feuillet hétérogène, d'aspect syncytial puisque les limites cellulaires sont indiscernables et dans lequel les cellules qui s'y sont intégrées ont perdu leur différenciation histologique originelle. Rappelons que les différents tissus cultivés *in vitro* produisent des éléments d'aspect identique, mais qui gardent cependant leur spécificité physiologique.

Au niveau des nerfs coupés, la névroglie subit une hyperplasie; cette prolifération réactionnelle représente l'ébauche du gliome qui joue un rôle important dans la régénération nerveuse et notamment dans le rétablissement des connexions (fig. 28).

Durant toute cette deuxième phase, on n'observe pas de mitoses dans l'endoblastème en dépit de l'accroissement constant de la population nucléaire; la réaction de Hotchkiss révèle la présence de glycogène, mais ce produit disparaît brutalement par suite d'une utilisation intense; enfin, on note un enrichissement progressif en ribonucléines pyroninophiles cytoplasmiques et nucléolaires et la réaction de Gomori devient légèrement positive.

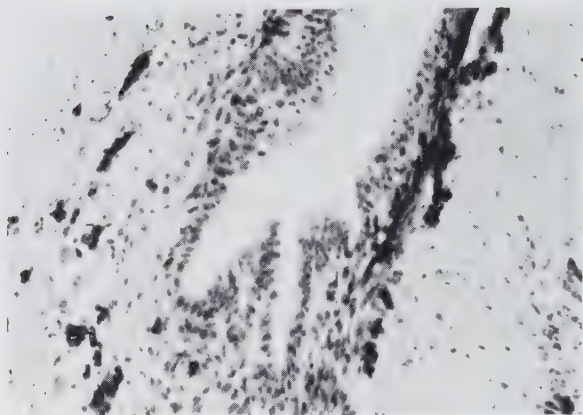


FIG. 32. — *Arion*, 13 jours après l'amputation, vue d'ensemble du blastème; bordant la fosse de rétraction du régénérat (au centre), remarquer l'exoblastème dont les cellules toutes semblables possèdent un nucléole Gomori positif déjà discernable même à ce grossissement. Au sein de l'endoblastème (à l'extrême droite et à l'extrême gauche), on peut voir, très vivement colorées en noir, des cellules à granulations calcaires, très caractéristiques du tégument des Mollusques. Alcool 95°; Gomori et rouge nucléaire solide.

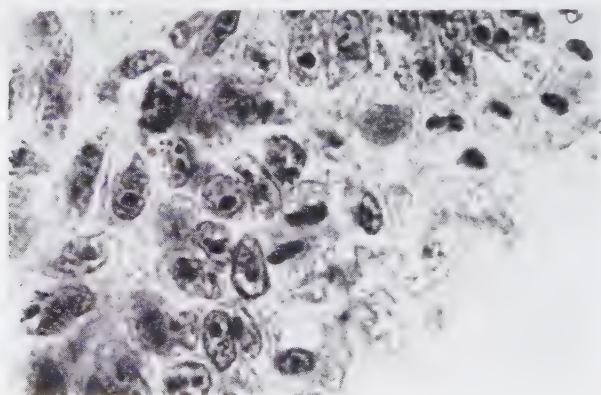


FIG. 33. — *Arion*, 13 jours après l'amputation, détail de la coupe précédente; la réaction de Gomori est positive au niveau des gros nucléoles des cellules de l'exoblastème; remarquer en outre, dans ce feuillet, des figures de mitose au milieu et au bas de la photo. Alcool 95°; Gomori et rouge nucléaire solide.

En résumé, si cette deuxième phase est une période de latence pour l'exoblastème, elle correspond au contraire à une période de recrutement massif et au début de l'activité de l'endoblastème.

c) *Activation et croissance du 12° au 30° jour* (fig. 32 à 35).

L'exoblastème : l'épithélium pavimenteux qui le constitue se modifie progressivement; les cellules deviennent plus volumineuses et plus hautes et leur nucléole commence à présenter les signes d'une activité intense : taille importante, basophilie accentuée, présence de phosphatases alcalines, et d'une inclusion réfringente. Ces faits peuvent s'observer jusqu'au 20° jour environ et doivent être considérés, semble-t-il, comme un « élan » des cellules de l'exoblastème avant l'avènement de la phase de mitoses (fig. 32 et 33). Puis, du 20° au 30° jour, les cellules de l'exoblastème se multiplient activement, il en résulte que ce feuillet, primitivement simple,



FIG. 34.



FIG. 35.

FIG. 34. — *Arion*, 30 jours après l'amputation; vue d'ensemble du blastème; en bordure de la fosse de rétraction du régénérat, remarquer l'exoblastème dont les cellules très pyroninophiles sont toutes semblables et possèdent un volumineux nucléole lui-même riche en ribonucléines. Au sein de l'endoblastème (vers le bas), noter la présence de plusieurs types de cellules dont la pyroninophilie nette est moins intense cependant que celle des cellules de l'exoblastème. Carnoy; vert de méthyle-pyronine.

FIG. 35. — *Arion*, 30 jours après l'amputation, détail de l'exoblastème; remarquer la richesse en ribonucléines de ce feuillet dont les cellules à noyaux turgescents présentent un gros nucléole pourvu d'une inclusion réfringente. Carnoy; vert de méthyle-pyronine.

devient épais et pluristratifié. Simultanément, l'enrichissement en ribonucléines s'accuse de plus en plus et est contemporain d'une glycolyse intense et d'une diminution progressive, puis d'une disparition de la réaction de Gomori au niveau des nucléoles (fig. 34 et 35).

L'endoblastème : du point de vue histologique, il ne présente pas de différence relativement au stade précédent; cependant, ce feuillet est plus

épais et la population cellulaire semble s'être considérablement accrue en dépit de l'absence de mitoses. Ceci peut s'expliquer de deux façons : d'une part, du fait que l'endoblastème se recrute à partir de cellules émigrées des tissus anciens, donc d'éléments préexistants, et, d'autre part, il semble bien qu'étant donné l'aspect étiré de nombreux noyaux on soit autorisé

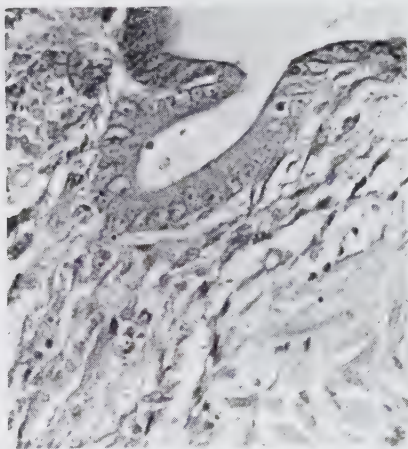


FIG. 36.

FIG. 36. — *Agriolimax*, 11 jours après l'ablation; photo montrant la formation de la vésicule optique à partir d'une invagination de l'exoblastème. Bouin; hémalun-éosine.



FIG. 37.

FIG. 37. — *Arion*, 40 jours après l'amputation; l'œil est presque parfaitement régénéré; à droite on reconnaît la cornée dont les cellules sont très peu colorées, car pauvres en A. R. N.; à gauche, le fond de l'œil est occupé par la rétine dans laquelle on discerne 2 zones : la première, interne, correspond à la couche des cellules pigmentaires; la seconde externe, correspond à la couche des cellules visuelles et ganglionnaires à cytoplasme très pyroninophile, car c'est le moment de la poussée du nerf optique. Carnoy; vert de méthyle-pyronine.

à admettre que les cas d'amitoses ne sont pas rares dans ce feuillet. Plusieurs auteurs ont déjà reconnu l'intervention probable de la division directe au cours de l'histogenèse normale ou régénérative du tissu musculaire dans divers groupes (NAVILLE, 1922; COUTEAUX, 1941; BETZ, 1951). Notons qu'à ce moment le glycogène a disparu de l'endoblastème, tandis qu'augmente le taux en A. R. N. et que la phosphatase alcaline apparaît en quantité appréciable.

De son côté, le gliome s'est accru et continue à végéter vers la périphérie (donc vers l'exoblastème). Il est fortement Hotchkiss-positif, mais il ne s'agit pas de glycogène (fig. 29).

d) *Différenciation et retour à la normale du 30^e au 60^e jour.*

L'exoblastème : se présente comme un feuillet très épais aux environs du 30^e jour, puis s'amincit bientôt dans sa région centrale et s'invagine alors progressivement pour former la vésicule optique (voir fig. 36). Les cellules de l'ébauche oculaire ainsi formée ne se distinguent d'abord pas de celles de l'exoblastème; comme ces dernières, elles sont elles-mêmes souvent en mitoses et, lorsqu'elles sont en interphase, elles présentent à nouveau un gros nucléole basophile à sphérule réfringent comme les cellules indifférenciées de l'exoblastème; puis l'invagination optique s'isole, c'est alors une petite vésicule creuse dont les cellules, apparemment toutes équivalentes et indifférenciées, sécrètent une substance fluide dont les gouttelettes confluent peu à peu pour former le cristallin. Vers le 35^e jour, la rétine commence à se pigmenter; cette pigmentation débute vers le fond de l'œil, puis progresse latéralement; pendant que se parfait la pigmentation de la rétine, les cellules de la partie distale de la vésicule optique se transforment en un épithélium prismatique simple caractéristique de la cornée. Au contraire, la partie proximale de l'œil est constituée par plusieurs couches de cellules qui, outre les cellules pigmentaires, comportent les cellules visuelles proprement dites et des cellules ganglionnaires; la glycolyse est intense au niveau de ces cellules qui, par contre, sont très riches en ribonucléines pyroninophiles; or, c'est précisément à ce moment et à partir de ces cellules qu'a lieu la poussée du nerf optique (fig. 37). Les fibres néoformées progressent peu à peu vers le gliome et vont réhabiter le bout optique dégénéré.

Les organes olfactifs sont également régénérés par l'exoblastème au même moment que l'œil, mais selon un procédé différent de l'invagination. Vers le 30^e jour, des neuroblastes se détachent massivement de l'exoblastème : les uns demeurent superficiels, correspondent aux cellules olfactives proprement dites et s'agencent très rapidement en lobules; les autres s'enfoncent plus profondément et correspondent aux cellules ganglionnaires. Presque immédiatement après leur immigration, et alors leur basophilie est intense, les cellules olfactives et ganglionnaires émettent des fibres nerveuses en direction centripète; la réunion des fibres émanées de ces cellules aboutit à la néoformation du neuropile du ganglion olfactif et du nerf olfactif lui-même dont l'extrémité en régénération croît en direction centripète vers le bout proximal olfactif dégénéré. En somme, en ce qui concerne le raccordement des nerfs anciens aux nerfs néoformés, qu'il s'agisse du nerf olfactif ou du nerf optique, ce raccordement est hautement favorisé par deux phénomènes de prolifération qui ont lieu en sens inverse : d'une part, dans la région proximale, la névroglie subit une hyperplasie en direction centrifuge, ainsi s'édifie le gliome, et, d'autre part, dans la région distale, les fibres nerveuses émises en direction centripète par les cellules sensorielles et ganglionnaires régénérées constituent

un névrome qui croît vers le gliome et est peut-être attiré par lui.

Notons que les nerfs péritentaculaires, dont il n'a pas encore été question, sont très facilement régénérés puisqu'ils n'ont perdu que des fibres et que leurs cellules d'origine, situées dans le ganglion cérébroïde, sont donc restées en place.

Enfin, lorsque l'œil et les organes olfactifs sont régénérés, l'exoblastème n'est plus alors qu'un épithélium cubique simple en tout point comparable, histologiquement et histochimiquement, à l'épiderme dont il provient.

L'endoblastème : à ce stade, les phénomènes d'histolyse étant terminés, l'endoblastème ne contient pratiquement plus de macrophages, mais est uniquement constitué par des myoblastes; ce sont des éléments fusiformes disposés en files régulières parallèlement au grand axe du tentacule en régénération; le cytoplasme et le volumineux nucléole des myoblastes sont alors vivement colorés par la pyronine; par contre, ils ne contiennent pas de glycogène et la phosphatase alcaline a dis-



FIG. 38. — *Arion*, 40 jours après l'amputation; le tentacule est déjà presque parfaitement régénéré; de haut en bas, on reconnaît : les lobules olfactifs, l'œil, une partie du neuro-pile du ganglion olfactif et le muscle rétracteur. Regaud; réaction de Feulgen et picro-indigo-carmin.

paru. Il est intéressant de rappeler ici que le muscle tentaculaire normal ne contient presque pas d'A. R. N. et qu'il est au contraire riche en glycogène. Aux environs du 35^e jour, moment où s'effectue le raccordement des nerfs anciens aux nerfs néoformés, et en conséquence de ce raccordement, l'endoblastème recouvre la forme tubulaire qui caractérise le muscle tentaculaire normal. Simultanément débute la myogenèse : les myoblastes commencent à différencier des fibres lisses et le glycogène réapparaît progressivement dans le tissu musculaire néoformé.

En somme, qu'il s'agisse de la régénération des organes sensoriels ou de celle de la gaine musculaire, ce 4^e stade comporte deux étapes :

TABLEAU IV
ÉVOLUTION HISTOCHIMIQUE DU BLASTÈME DE RÉGÉNÉRATION TENTACULAIRE CHEZ *Arion rufus* L.

Réactions histochimiques	Parties du blastème	¹ Cicatrisation jusqu'au 4 ^e jour	² Latence ; activation du 4 ^e au 12 ^e jour	³ Croissance du blastème du 12 ^e au 30 ^e jour	⁴ Différenciation et retour à la normale du 30 ^e au 60 ^e jour
Réaction nucléaire de <i>Feulgen</i> (mitoses).	Exoblastème ; épithélium cicatriciel.	— Pycnoses.	±	+++ ↗	++ ↗ puis retour à la normale.
	Endoblastème ; massif cicatriciel sous-épidermique.	— Pycnoses.	—	—	—
Vert de méthyle-pyronine.	Exoblastème.	±	+	+++ ↗	+++ ↗ puis retour à la normale.
	Endoblastème.	±	+	++ ↗	++ ↗ puis retour à la normale.
Réaction de <i>Hotchkiss</i> .	Exoblastème.	±	±	—	— puis retour à la normale.
	Endoblastème.	+++	↗ +	—	— puis retour à la normale.
Réaction de <i>Gomori</i> (phosphomono estérases I).	Exoblastème.	—	±	+	± sauf les fibres nerveuses néoformées.
	Endoblastème.	—	±	++	— retour à la normale.

La première étape s'étend approximativement du 30° au 45° jour après l'ablation et correspond à une phase de différenciation; la deuxième se déroule du 45° au 60° jour et doit être considérée comme une phase de normalisation durant laquelle les tissus tentaculaires régénérés récupèrent progressivement les mêmes caractères histochimiques que ceux du tentacule normal. Notons cependant que, bien que le tentacule régénéré retrouve intégralement les caractères histologiques et histochimiques du tentacule normal, il demeure cependant presque toujours morphologiquement plus petit que lui (fig. 38).

Le tableau IV résume l'ensemble des observations effectuées tout au long de l'évolution du blastème de régénération tentaculaire chez *Arion rufus* L.

V. — ÉTUDE DYNAMIQUE DE LA RÉGÉNÉRATION TENTACULAIRE

Les techniques mises en œuvre jusqu'ici n'ont permis qu'une étude descriptive de la régénération du tentacule oculaire; pour confirmer ou infirmer les résultats obtenus au cours du chapitre précédent, et surtout pour établir avec certitude l'origine des tissus régénérés, une étude dynamique de la régénération tentaculaire s'est avérée nécessaire. Cette étude, effectuée uniquement sur *Arion*, a été commencée par la méthode des injections physiologiques et poursuivie en faisant subir au tentacule des traumatismes divers; elle concerne une centaine de sujets (tableaux V et VI).

1. — INJECTIONS PHYSIOLOGIQUES

Les effets de la colchicine, du bleu trypan, du carmin lithiné et de l'encre de Chine ont été successivement envisagés. Le tableau V donne pour chacun des produits injectés le nombre de pièces fixées ainsi que le moment choisi pour effectuer les prélèvements.

A. — Action de la colchicine.

On sait que la méthode à la colchicine permet de localiser avec précision les mitoses qui se sont produites dans un tissu pendant un temps déterminé. Dans ce but, de jeunes *Arion* amputés de la partie distale du tentacule oculaire gauche ont été fixés à divers stades de l'évolution du régénérat après avoir reçu 2 injections de colchicine à 1 p. 5 000, l'une 24 heures et l'autre 6 heures avant la fixation. Les pièces fixées par les liquides de Flemming ou de Regaud ont été coupées en série et traitées par la réaction nucléaire de Feulgen.

a. *Action sur l'exoblastème* (fig. 39 et 40) : pour donner un caractère quantitatif à cette expérience, quelques comptages de mitoses ont été effectués au niveau de l'exoblastème au cours de son évolution. Les résultats étant très nets, les mitoses n'ont été comptées que sur une seule coupe pour chacun des stades étudiés : la coupe étant choisie dans la partie la plus centrale de l'exoblastème, région où ce feuillet est le plus épais et le plus actif. A partir des chiffres obtenus, il a été possible d'établir une courbe (voir fig. 39) qui fait ressortir les faits suivants :

Les 10 premiers jours après l'amputation, qui correspondent en fait à

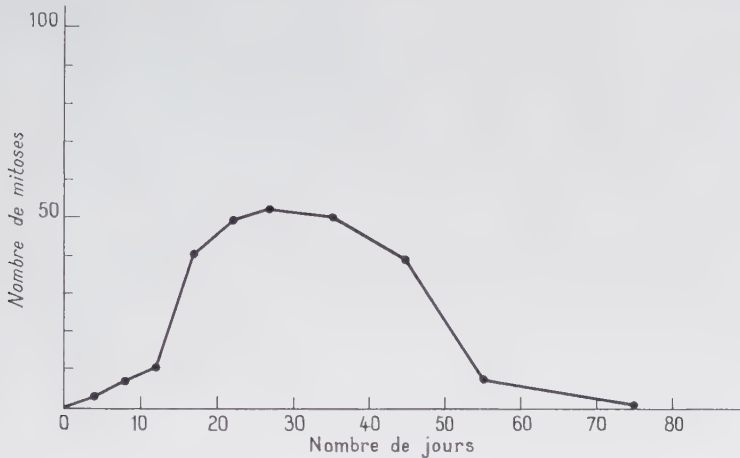


FIG. 39. — Variation du nombre des mitoses dans l'exoblastème au cours de la régénération tentaculaire chez *Arion rufus* en fonction du temps, après injection de colchicine.

la période de cicatrisation et à la phase de latence de l'exoblastème, la colchicine ne met en évidence que de très rares mitoses dans ce feuillet. A partir du 12^e jour, le nombre des mitoses s'élève progressivement; du 25^e au 45^e jour, c'est-à-dire lors de la morphogenèse des organes sensoriels et du centre olfactif, le taux des mitoses passe par un maximum; à ce moment, il est alors possible de dénombrer jusqu'à une cinquantaine de mitoses par champ microscopique pour un grandissement de 240 (fig. 40). Après s'être maintenu relativement constant pendant quelques jours, le taux des mitoses chute ensuite rapidement à partir du 45^e jour, lorsque commence la phase de différenciation, puis devient pratiquement nul aux environs du 60^e jour.

b. *Action sur l'endoblastème* : la densité en noyaux de l'endoblastème, déjà notable dès les premiers prélèvements, ne cesse d'augmenter; cependant, la colchicine ne décèle pas de mitoses dans ce feuillet. Comment

expliquer alors l'accroissement considérable du nombre des cellules dans l'endoblastème ? Deux arguments le permettent; d'une part, l'endoblastème se recrute uniquement à partir des cellules libérées par les tissus anciens et plus particulièrement par le muscle rétracteur, donc à partir d'éléments préexistants; d'autre part, ces cellules, une fois libérées, se divisent par amitose ainsi que plusieurs faits obligent à l'admettre : en effet, les noyaux de l'endoblastème, dans lesquels on ne voit jamais s'individualiser de chromosomes, mais au contraire dans lesquels la chromatine est toujours finement granuleuse et également répartie, se présentent sous

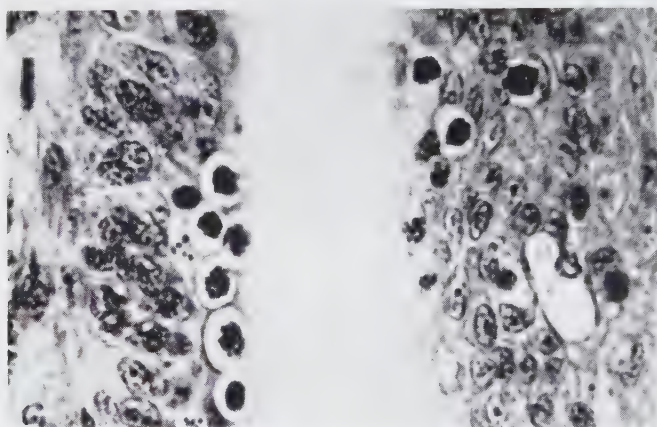


FIG. 40. — *Arion*, détail de l'exoblastème montrant l'aspect des pycnoses à un fort grossissement après 2 injections de colchicine à 1 p. 5 000.

deux aspects. Les noyaux du premier type sont allongés, présentent un rétrécissement médian et deux nucléoles situés chacun à un pôle du noyau; les noyaux du second type, en plus grand nombre que les précédents, sont arrondis, possèdent un seul nucléole et proviennent par amitose des noyaux allongés. On verra plus loin que les résultats obtenus après injection de bleu trypan apportent un argument décisif en faveur de la division directe des éléments de l'endoblastème.

Enfin, ces observations sont renforcées par le fait que le processus amitotique est considéré comme habituel dans certains tissus, notamment dans le tissu musculaire, par de nombreux auteurs. C'est ainsi que NAVILLE (1922), COUTEAUX (1941), CHÈVREMENT (1942) et BETZ (1951) admettent l'existence de la division directe au cours du développement ontogénétique ou régénératif du tissu musculaire ainsi que dans les cultures *in vitro* de ce même tissu.

B. — Action du bleu trypan (fig. 41, 42 et 43).

Ce colorant à micelles très fines (6,6 Å) est un colloïde électronégatif athrocytable par les cellules histiocytaires qu'il permet ainsi de déceler; en outre, DUSTIN (1925) a montré que le bleu trypan est un agent caryoclasique. Etant données les deux propriétés de ce produit, il était intéressant d'en étudier les effets sur le blastème de régénération tentaculaire. Dans ce but, des injections de bleu trypan à 1 p. 1 000 dans le liquide physiologique à 6 p. 1 000 ont été administrées à des *Arion* amputés de la partie distale du tentacule oculaire gauche; ces injections ont été renouvelées tous les 4 jours. Les pièces, après fixation au susa, ont été coupées en série et colorées par le rouge nucléaire solide.

TABLEAU V

Produit injecté	Temps en jours et nombre de pièces fixées										Totaux partiels
	4	8	12	17	22	27	34	45	55	75	
Colchicine	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	20
Bleu trypan	1	1	1	1	1	2	1	1	2	2	13
Encre de Chine	1	1	1	1	1	2	1	1	2	2	13
Carmin lithiné	1	1	2	1	1	2	1	1	2	2	14

a. Action sur l'exoblastème (fig. 41) : durant la cicatrisation et la phase de latence de l'exoblastème, les effets du bleu trypan ne sont pas perceptibles; par contre, durant la phase de mitoses et de morphogenèse, qui s'étend du 12^e au 45^e jour après l'amputation et chez les sujets qui ont reçu des injections répétées de bleu trypan, ce produit détermine une « crise caryoclasique » dans l'exoblastème, au sein duquel presque toutes les mitoses amorcées dégénèrent en pycnoses. Si l'on poursuit l'administration de bleu trypan au-delà du 45^e jour, c'est-à-dire durant la phase de différenciation, dans bien des cas la régénération de l'œil et des organes olfactifs est totalement inhibée ou, pour le moins, déficiente. Ainsi, sur 7 sujets qui auraient dû présenter un tentacule oculaire normalement régénéré, 4 possédaient un tentacule totalement dépourvu d'organes sensoriels, 1 présentait un tentacule avec organes olfactifs imparfaitement régénérés et pas d'œil, enfin, les 2 derniers possédaient bien un tentacule oculaire normalement régénéré, mais beaucoup plus petit que dans les conditions habituelles. L'exoblastème régénère donc l'œil et les organes olfactifs puisque ceux-ci font totalement ou partiellement défaut

lorsque l'on provoque la pynose expérimentale des cellules de ce feuillet par le bleu trypan.

Précisons, en outre, qu'à aucun moment de leur évolution les cellules de l'exoblastème n'athrocytent le bleu trypan; il ne s'agit donc pas de cellules histiocytaires.

b. *Action sur l'endoblastème* : les mitoses sont absentes de l'endoblastème; ce fait, confirmé par la méthode à la colchicine, explique l'absence d'action mitoclasique du bleu trypan sur cette partie du blastème dont le recrutement et l'accroissement de population ne se trouvent en rien per-

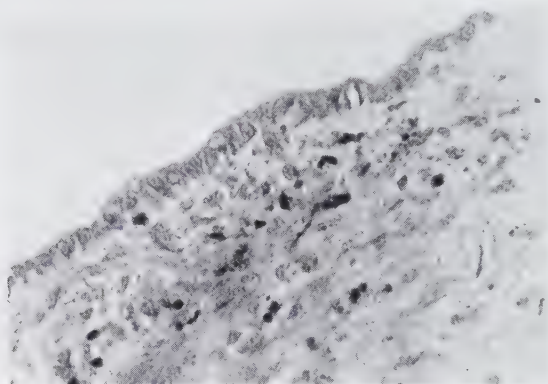


FIG. 41. — *Arion*, 17 jours après l'amputation et après 4 injections de bleu trypan à 1 p. 1 000; vue d'ensemble du blastème; seules certaines cellules de l'endoblastème, feuillet qui occupe toute la partie inférieure de la photo, ont athrocyté le bleu trypan. Susa; rouge nucléaire solide.

turbés par ce colorant. Ceci fournit un argument de poids en faveur de la division directe des éléments de l'endoblastème.

Par contre, de nombreuses cellules de l'endoblastème athrocytent le bleu trypan dont les micelles sont floclées et fixées au sein de leur cytoplasme sous forme de fines granulations bleu vif (fig. 42 et 43). On trouve donc dans l'endoblastème de régénération tentaculaire d'*Arion* des cellules à caractères histiocytaires provenant par transformation de cellules musculaires, conjonctives, sanguines ou névrogliales libérées par des tissus anciens situés dans le plan de section. La part qui revient à ces cellules dans la régénération proprement dite est nulle ou insignifiante, mais par contre, il est certain qu'histiocytes et macrophages jouent un rôle fondamental dans le remaniement des parties anciennes (morphallaxis) et dans la résorption des cellules lésées. Dans cet ordre d'idées, le rôle des macrophages a été étudié en détail au cours de la dégénérescence nerveuse préluant à la régénération (cf. chapitre IV).

Rappelons que l'intervention des histiocytes et des macrophages a été

démontrée au cours de la régénération nerveuse, osseuse et musculaire chez les Vertébrés par divers auteurs : NAGEOTTE (1922), DAVID (1934), LECAMP (1943) et BETZ (1947). Plus récemment, et précisément chez *Arion*,

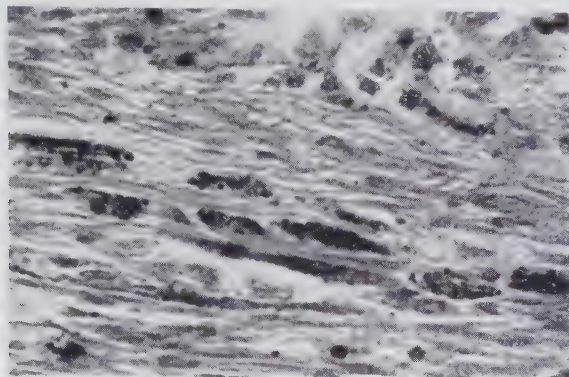


FIG. 42. — *Arion*, 17 jours après l'amputation et après 4 injections de bleu trypan à 1 p. 1 000; détail de l'endoblastème montrant, à un plus fort grossissement, l'aspect des divers types de cellules qui ont athrocyté le bleu trypan. Susa; rouge nucléaire solide.

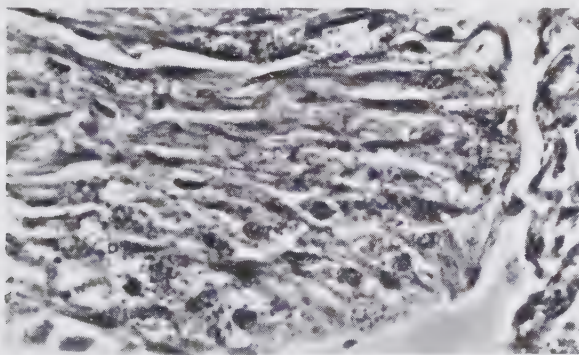


FIG. 43. — *Arion*, 17 jours après l'amputation et après 4 injections de bleu trypan à 1 p. 1 000; photo prise au microscope à contraste de phase, montrant les nombreuses granulations de bleu trypan athrocytées par les cellules conjonctives périneurales. Susa; rouge nucléaire solide.

LAVIOLETTE (1954) a suggéré la probabilité de l'intervention de cellules histiocytaires dans la formation du « nodule conjonctif cicatriciel » qui se constitue au cours de la mise en place du blastème de régénération germinale chez *Arion*; mais l'auteur n'apporte pas de preuve en faveur de cette interprétation. Les résultats obtenus ici permettent de penser que l'intervention des cellules histiocytaires est un phénomène constant au cours des processus régénératifs.

C. — *Action de l'encre de Chine.*

L'encre de Chine a des micelles de très grande taille pouvant atteindre 1 000 Å; de plus, ce produit, à l'inverse du bleu trypan, n'est pas toxique. Il était donc intéressant d'utiliser l'encre de Chine en injections physiologiques afin de vérifier si les faits observés après injection de bleu trypan étaient bien la conséquence d'une action caryoclasique propre à ce colorant.

Les limaces en expérience ont été traitées de la même façon que dans le cas du bleu trypan.

a. *Action sur l'exoblastème* : les mitoses se produisent normalement dans l'exoblastème, dont le développement ne semble pas perturbé par les injections d'encre de Chine. Les organes sensoriels et le ganglion olfactif régénèrent normalement et dans les délais habituels; dans un seul cas, un léger retard sur les limaces témoins est à noter.

b. *Action sur l'endoblastème* : l'encre de Chine donne des résultats superposables à ceux obtenus après injection de bleu trypan, mais les images qui en résultent sont plus difficiles à interpréter, car il y a confusion possible entre les cellules pigmentaires de la gaine conjonctive du muscle et les cellules histiocytaïres et les macrophages qui ont athrocyté l'encre de Chine.

En somme, l'athrocytose de l'encre de Chine, par certains éléments de l'endoblastème, ne modifie pas de façon sensible la régénération des organes sensoriels, il en découle que la non-régénération de ces organes, observée après injection de bleu trypan, provient d'une action propre à ce colorant.

D. — *Action du carmin lithiné.*

Les micelles du carmin sont d'environ 10 Å; les 3 colorants employés ont donc tous des micelles de taille différente, fait qui permettait de rechercher des variations possibles de la capacité d'athrocytose en fonction de la taille des particules.

En ce qui concerne les injections et la fixation, les limaces en expérience ont subi le même traitement que dans le cas du bleu trypan et de l'encre de Chine; la seule différence réside dans le fait que les coupes en série ont été colorées par l'hématoxyline de Groat et non par le rouge nucléaire solide comme dans les deux cas précédents, pour obtenir un contraste plus lisible.

a. *Action sur l'exoblastème* : les mitoses ne semblent pas perturbées par le carmin lithiné; les lobules olfactifs et le ganglion olfactif sont normalement régénérés et dans les délais habituels. Cependant, dans la majorité

des cas, l'œil n'est pas régénéré ou bien alors demeure très petit. Il semble que l'on puisse expliquer la non-régénération de l'œil par la présence de carbonate de lithium dans les solutions injectées. A la suite des travaux de RAVEN, on sait en effet que les sels de lithium sont susceptibles d'agir électivement sur l'œil de l'embryon de *Lymnæa stagnalis* en provoquant des cas de cyclopie et d'anophtalmie. Des injections d'un sel de lithium employé seul pourraient sans doute permettre de conclure à ce sujet.

b. *Action sur l'endoblastème* : les cellules de ce feuillet douées d'athrocytose pour le carmin lithiné sont très rares; seules les cellules conjonctives périneurales présentent une colloïdopexie nette pour ce colorant. Il en résulte que les capacités d'athrocytose des cellules histiocytaires mises en évidence dans l'endoblastème à l'aide d'injections colorées ne peuvent se ramener à un problème de taille de micelles puisque les cellules qui sont capables de flocculer les très grosses particules de l'encre de Chine n'athrocytent que très exceptionnellement dans leur cytoplasme les micelles beaucoup plus fines du carmin.

2. — TRAUMATISMES DIVERS

Un deuxième groupe d'expériences a été entrepris; au cours de ces expériences, le tentacule a été soumis à des traumatismes variés n'entraînant pas nécessairement l'ablation de cet organe.

Jusqu'ici, la régénération n'a été étudiée qu'après ablation de la partie distale du tentacule, celui-ci étant en extension; une telle section intéresse tous les tissus présents dans le tentacule, mais possède l'inconvénient de laisser en place une petite partie du muscle rétracteur et des nerfs sensoriels. Etant donnée la position relative des tissus du tentacule lorsque cet organe est rétracté, il est possible, à la faveur d'une fente pratiquée dans

TABLEAU VI

Nature du traumatisme	Temps en jours et nombre de pièces fixées														Totaux partiels
	3	6	9	12	18	25	31	45	60	70	80	90	100	120	
Section de la gaine tégumentaire	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	12
Section du muscle rétracteur et des nerfs sensoriels.....	1	1	1	1	2	1	1	1	1	—	1	1	1	—	13
Ablation totale.....	—	—	—	—	1	1	—	1	1	1	1	1	1	4	12

le tégument dorsal, de traumatiser électivement certains de ces tissus à l'exclusion des autres (fig. 44); trois types d'expériences ont été effectuées dans cet esprit; le tableau VI donne, pour chacune de ces 3 expériences, le nombre de pièces fixées ainsi que la date des prélèvements successifs.

A. *Section de la gaine tégumentaire invaginée
sans produire de lésion nerveuse ou musculaire,
le tentacule restant donc en place (fig. 44, 3).*

La blessure se referme par étalement des cellules épidermiques qui, en se divisant, constituent un exoblastème possédant les mêmes caractères histochimiques que celui qui se forme après ablation de la partie distale du tentacule, mais cet exoblastème demeure toujours un mince feuillet qui ne régénère que l'épiderme manquant; l'activation de l'épiderme déterminée par la section de la gaine tégumentaire n'est donc pas suffisante pour provoquer une régénération des organes sensoriels, d'autres facteurs étant nécessaires pour cela. A ce sujet, on peut envisager plusieurs possibilités :

— l'exoblastème épidermique ne peut actualiser ses potentialités en présence des organes sensoriels, l'ablation de ces organes, et probablement aussi les phénomènes de dégénérescence nerveuse qui en résultent, étant alors la condition indispensable pour obtenir leur néoformation;

— l'action inductrice possible de l'endoblastème sur l'exoblastème ne peut s'exercer dans le cas étudié ici où il n'y a eu, en effet, ni section de nerf ni section de muscle, tissus à partir desquels s'édifient l'endoblastème;

— enfin, une conclusion s'impose avec certitude à la suite de cette expérience : l'exoblastème est bien une production épidermique.

B. — *Section du muscle rétracteur et des nerfs sensoriels
sans léser la gaine tégumentaire
et en laissant les 2 segments tentaculaires en place (fig. 44, 4).*

Les 2 tronçons qui résultent de la section du tentacule sont rapidement réunis par un endoblastème recruté à partir de cellules émigrées des tissus musculaire, conjonctif et névroglique lésés.

Dans le segment distal, le ganglion olfactif et l'œil ne présentent aucun signe de régression; les bouts nerveux distaux ne subissent qu'une dégénérescence primaire banale d'origine traumatique au niveau de la section, les fibres de ces nerfs sont donc efférentes sans quoi elles subiraient la dégénérescence wallérienne. Cependant, dans le bout distal du nerf olfactif, nerf qui reçoit quelques fibres centrifuges du procérébrum, on

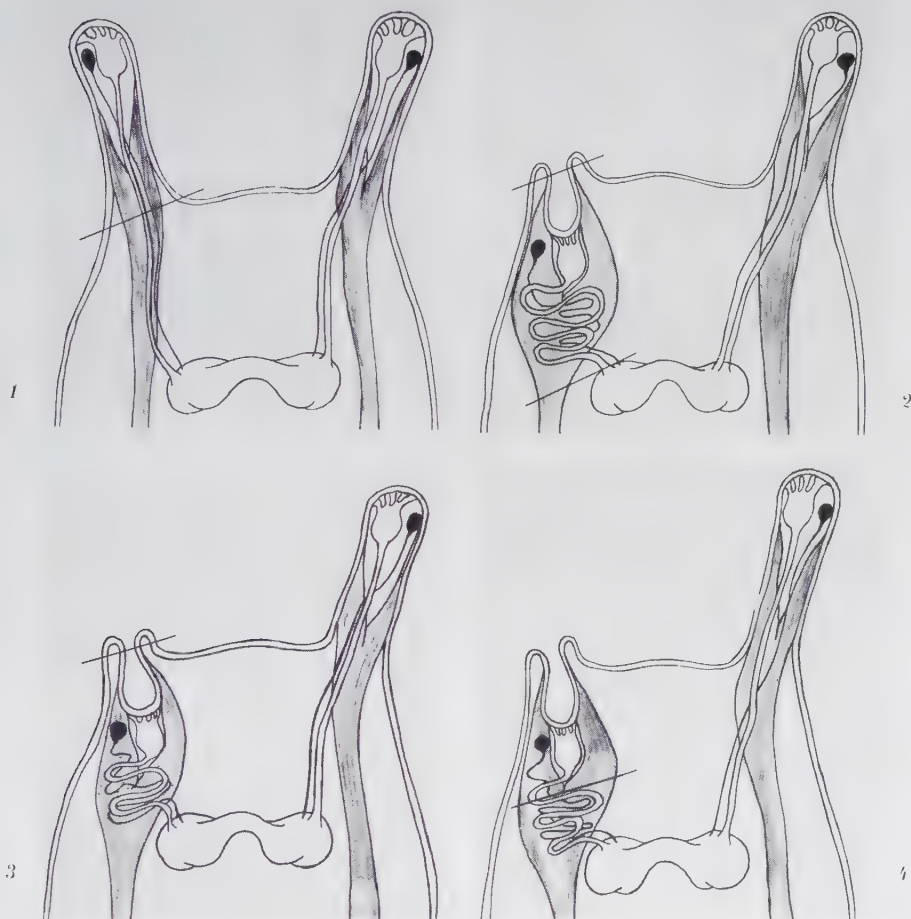


FIG. 44. — Dessin schématisant les 4 types d'opérations effectuées.

- 1, ablation partielle, cas le plus généralement étudié.
- 2, ablation totale.
- 3, section de la gaine tégumentaire sans léser les autres constituants du tentacule.
- 4, section du tentacule en son milieu en laissant les éléments en place.

peut observer plus ou moins bien, selon le niveau de la section, quelques îlots de dégénérescence secondaire.

Dans le segment proximal, les bouts olfactif et optique subissent la dégénérescence secondaire, mais une quarantaine de jours après l'expérience, les fibres dégénérées proximales sont remplacées par des fibres

néoformées émises par les cellules sensorielles et ganglionnaires distales.

Cette deuxième expérience confirme :

— que l'endoblastème provient de la condensation et de la multiplication des cellules émigrées des tissus musculaire, conjonctif et névroglique lésés et non des mitoses de l'exoblastème;

— que les nerfs olfactif et optique sont essentiellement centripètes et formés par la réunion des fibres nerveuses émanées de l'organe sensoriel qui leur correspond.

C. — Ablation totale du tentacule (fig. 44, 2).

Elle est suivie par la formation d'un blastème de régénération comportant un exoblastème normal et un endoblastème réduit qui évoluent ainsi :

L'exoblastème régénère bien les organes sensoriels, mais en un temps très long et de façon imparfaite; l'œil présente de fréquentes malformations et la partie proximale des nerfs sensoriels demeure souvent très grêle.

L'endoblastème, dont la population est très clairsemée, le recrutement en myoblastes ne s'effectuant plus qu'à partir de cellules émigrées du muscle rétracteur de la tête, régénère bien un muscle tentaculaire, mais ce dernier est très insuffisamment restauré. Une régénération satisfaisante du muscle tentaculaire est donc soumise à un recrutement suffisant en myoblastes de l'endoblastème. Même après des expériences de très longue durée (4 mois), jamais le tentacule régénéré n'atteint la taille du tentacule témoin, ce qui était généralement de règle après ablation tentaculaire partielle.

En conclusion, le cas de la régénération tentaculaire chez *Arion rufus* doit être considéré comme celui d'un système à potentialités partielles; le fait que la régénération devienne anormale ou insuffisante après ablation totale du tentacule, alors qu'elle est très satisfaisante et plus rapide après ablation partielle, indique que l'on arrive à la limite des potentialités du système.

Il est peut-être utile de rappeler que le terme de « système à potentialités partielles », employé par ABELOOS (1932), s'applique aux êtres capables de régénérer une partie amputée, de faible étendue généralement, par une partie semblable et exclusivement par elle. Les systèmes à potentialités partielles semblent donc assimilables aux « territoires de régénération » définis par GUYENOT (1927) et ses collaborateurs; en outre, ils s'opposent aux systèmes à potentialités totales qui existent chez les êtres capables de reformer un individu complet à partir d'un simple fragment de cet individu.

L'essentiel des résultats obtenus au cours de cette analyse expérimentale est consigné dans un tableau récapitulatif (voir tableau VII).

TABLEAU VII

Expériences effectuées	Résultats	
	Exoblastème	Endoblastème
Injection de colchicine. .	Mitoses +++.	Mitoses —.
Injection de bleu trypan (micelles = 6,6 Å)....	Mitoses → pycnoses → absence organes sensoriels.	Mitoses —.
	Athrocytose —.	Athrocytose +++.
Injection d'encre de Chine (micelles = 1 000 Å)	Mitoses normales → régénération des organes sensoriels.	Mitoses —.
	Athrocytose —.	Athrocytose +++.
Injection de carmin lithiné (micelles = 10 Å).	Mitoses normales → organes olfactifs régénérés mais absence d'œil. Action lithium ?	Mitoses —.
	Athrocytose —.	Athrocytose ±.
Section de la gaine tégumen- taire	Mince exoblastème → épiderme régénéré.	Absent.
Section du muscle rétracteur et des nerfs sensoriels	Absent.	Réunit les 2 tronçons tentaculaires et restaure les tissus lésés.
Ablation totale	Normal, cependant parfois régénération imparfaite des organes des sens.	Peu développé → régénération musculaire insuffisante.

VI. — CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Au terme de ce travail, il est intéressant, d'une part, de replacer les observations effectuées dans le cadre de la régénération en général et, d'autre part, de comparer les résultats obtenus au cours de l'histogenèse normale et régénérative, après mise en œuvre des mêmes techniques.

Dans les divers groupes de Métazoaires susceptibles de régénérer, il est admis que la régénération résulte essentiellement de deux processus,

épimorphose et *morphallaxis*, qui, bien que différents, peuvent être associés.

Dans l'*épimorphose*, il se constitue, à partir des cellules voisines de la section, un blastème de régénération qui s'accroît uniquement par multiplication cellulaire de ses éléments originels, l'organogenèse s'effectuant uniquement aux dépens des cellules du blastème. L'*épimorphose* est donc un véritable phénomène de néoformation à partir d'un petit nombre d'éléments primordiaux, grâce au rôle prépondérant joué par les divisions cellulaires. Il résulte logiquement de cette définition et de mes observations que la régénération des organes sensoriels tentaculaires d'*Arion* et d'*Agriolimax* relève du phénomène d'*épimorphose* puisque ces organes sont régénérés à partir de l'exoblastème, feuillet dont les éléments constitutifs proviennent eux-mêmes, par mitose, des cellules épidermiques cicatricielles initialement peu nombreuses.

Dans la régénération par *morphallaxis*, le remodelage des parties anciennes prend le pas sur les phénomènes de division cellulaire; la nouvelle morphogenèse s'effectue essentiellement grâce à la réutilisation des éléments histologiques récupérables, tandis que les éléments irrémédiablement lésés sont détruits par histolyse et phagocytose. Or, au cours de cette étude de la régénération tentaculaire, j'ai pu observer et décrire dans le moignon tentaculaire laissé en place des remaniements importants qui se traduisent par des phénomènes d'histolyse accompagnés de modifications des caractères histochimiques des tissus en cause. En même temps, les éléments histologiques réutilisables perdent leurs caractères distinctifs et sont libérés en direction centrifuge pour constituer l'endoblastème à partir duquel se régénère, entre autres, le muscle rétracteur. Ces faits autorisent donc à rattacher la régénération du muscle tentaculaire au phénomène de *morphallaxis*.

En résumé, dans le cas de l'exoblastème, la morphogenèse est limitée à ce feuillet, il s'agit donc d'*épimorphose*; au contraire, pour l'endoblastème, elle s'étend aux parties anciennes et se fait par *morphallaxis*.

De la comparaison des résultats obtenus au cours de l'étude du développement embryonnaire et de la régénération du tentacule oculaire d'*Arion* et d'*Agriolimax*, il se dégage les conclusions suivantes :

Les organes sensoriels tentaculaires proviennent directement soit par invagination (œil), soit par immigration (organes olfactifs) de l'ectoderme des champs tentaculaires dans le cas de l'ontogenèse, et de l'exoblastème épidermique dans le cas de la régénération.

L'analyse comparée de l'évolution des caractères histochimiques de l'ébauche tentaculaire ectodermique et de l'exoblastème épidermique montre que ces deux feuillets adoptent le même comportement tout au long de l'histogenèse normale et régénérative (comparer les tableaux II et IV) : durant la phase de synthèse qui précède la morphogenèse des organes sensoriels, on observe, dans les noyaux des cellules des champs

tentaculaires ectodermiques ainsi que dans ceux des cellules de l'exoblastème, la présence de volumineux nucléoles basophiles, à inclusion réfringente et au niveau desquels existe une activité phosphomonoestérasiq; on sait que ces caractères (voir chapitre III : Discussion) sont l'indice d'une activité intense pour les cellules qui les présentent. Au moment de la morphogenèse des organes sensoriels, trois caractères se retrouvent constamment, tant au niveau de l'ectoderme que de l'exoblastème : augmentation du nombre des mitoses, enrichissement en ribonucléines pyroninophiles et absence de glycogène due à son utilisation. Enfin, dans les deux cas, après la différenciation des organes sensoriels tentaculaires, les caractères histochemiques des tissus en cause se rapprochent de plus en plus de ceux des tissus du tentacule normal.

En somme, la régénération des organes sensoriels tentaculaires chez *Arion rufus* L. et *Agriolimax agrestis* L. peut être considérée comme *une neurogenèse provoquée résultant de la récupération par l'épiderme des potentialités et des caractères histochemiques qui ont assuré l'ontogenèse de ces organes à partir des champs tentaculaires chez l'embryon*. Cependant, en dépit de ces ressemblances, il convient de mettre l'accent sur un phénomène qui n'existe qu'au cours de la régénération puisqu'il est une conséquence directe de l'ablation tentaculaire : il s'agit de la dégénérescence nerveuse, phénomène qui n'est certainement pas sans interférer sur celui de la régénération du tentacule.

RÉSUMÉ

Le tentacule oculaire et son développement embryonnaire sont étudiés au préalable par des méthodes convergentes histologiques et histochemiques chez deux Pulmonés Stylommatophores (*Arion rufus* L. et *Agriolimax agrestis* L.). Les phénomènes de dégénérescence nerveuse et les processus de régénération consécutifs à l'ablation tentaculaire sont à leur tour analysés par les mêmes méthodes, et les résultats de ces observations sont soumis à une étude expérimentale. Certains faits se dégagent avec netteté de ce travail :

1° L'ablation de la partie distale du tentacule oculaire détermine, dans les bouts nerveux proximaux et dans le procérébrum du ganglion cérébroïde, l'apparition de phénomènes de dégénérescence secondaire et rétrograde décrits ici en détail et comparables à ceux qui sont connus chez les Vertébrés :

— Les résultats positifs obtenus par la méthode de Marchi prouvent que les nerfs sensoriels d'*Arion* et *Agriolimax* contiennent de la myéline.

— L'intervention de macrophages dans la phagocytose et la digestion des produits dégénératifs démontre l'existence de la neuronophagie chez les deux Mollusques envisagés.

— La cicatrice névroglie, qui se constitue au niveau des nerfs coupés et qui joue un rôle important dans le rétablissement des connexions nerveuses, est

l'homologue du gliome qui s'édifie chez les Vertébrés au cours de la dégénérescence wallerienne.

2° En même temps que ces phénomènes de dégénérescence nerveuse, a lieu la mise en place du blastème de régénération qui comporte 2 feuilletts se distinguant l'un de l'autre par leur origine, leurs caractères histochimiques, leur mode de division cellulaire, le sens de leur différenciation et leurs dérivés :

L'exoblastème est d'origine épidermique; il présente une longue phase de latence au cours de laquelle on note seulement d'importantes modifications nucléolaires; puis l'exoblastème s'enrichit en ribonucléïnes et, simultanément, commence à se diviser par mitose. Au moment de la morphogenèse des organes sensoriels, le taux des ribonucléïnes et des mitoses passe par un maximum puis décroît progressivement au fur et à mesure de la différenciation de ces organes qui se fait en direction centripète et uniquement à partir des éléments de l'exoblastème.

L'endoblastème provient de la condensation, sous l'exoblastème, de cellules émigrées du moignon tentaculaire. En dépit de l'accroissement rapide de la population cellulaire dans ce feuillet, on n'observe jamais de mitoses au sein de ses éléments qui semblent se multiplier par division directe. Histochimiquement, l'endoblastème se caractérise par un enrichissement rapide en glycogène, mais à décroissance soudaine et par une teneur en ribonucléïnes qui, bien qu'importante, n'atteint jamais les proportions remarquables décelées au niveau de l'exoblastème. La croissance de l'endoblastème en direction centrifuge, jointe à son recrutement immédiat, favorise l'établissement rapide d'un pont cellulaire entre les parties anciennes et l'exoblastème. Les éléments restaurés à partir de l'exoblastème sont : le muscle rétracteur du tentacule, la couche dermo-musculaire et les éléments du conjonctif.

3° Les résultats précédents ont été confirmés expérimentalement au cours d'une étude dynamique qui a porté sur les points suivants :

Des injections répétées de colchicine et de bleu trypan, administrées à des *Arion* en cours de régénération tentaculaire, provoquent une crise caryoclasique dans l'exoblastème où les mitoses amorcées dégèrent en pycnose; dans la plupart des cas, la régénération des organes sensoriels est totalement inhibée ou pour le moins défectueuse; l'œil et les organes olfactifs régénérés proviennent donc bien des mitoses de l'exoblastème. L'absence d'action mitoclasique de la colchicine et du bleu trypan sur l'endoblastème est un argument important en faveur de l'amitose comme mode de multiplication cellulaire dans ce feuillet; cet argument est renforcé par la morphologie des noyaux et par l'opinion analogue émise par plusieurs auteurs au cours de la régénération de divers tissus dans d'autres groupes.

Des injections de colorants vitaux et d'encre de Chine renouvelées en temps voulu à des *Arion* amputés du tentacule mettent en évidence les propriétés d'athrocytose de certaines cellules de l'endoblastème (macrophages et histiocytes); au contraire, à aucun moment de leur évolution les cellules de l'exoblastème n'athrocytent les colorants vitaux injectés : il ne s'agit donc pas de cellules histiocytaires.

En soumettant le tentacule à des traumatismes divers, il est possible d'obtenir séparément chacun des deux feuilletts du blastème de régénération, rendant ainsi évidente l'origine de chacun d'eux : l'exoblastème est une production exclusivement épidermique; l'endoblastème ne provient pas des mitoses de l'exoblastème, mais de la mobilisation sous celui-ci et de la division directe des cellules émigrées des divers tissus lésés lors de l'ablation tentaculaire, à l'exception de l'épiderme.

BIBLIOGRAPHIE

- ABELOOS (M.), 1932. — Régénération et problèmes de morphogénèse. Gauthier-Villars, Paris.
- 1941. — Sur la régénération du pied des Limaciens. *C. R. Acad. Sci.*, **212**, 675-676.
- 1942 a. — Action organisatrice des greffes de sole pédieuse chez un Mollusque, *Agriolimax agrestis* L. *C. R. Acad. Sci.*, **212**, 815-817.
- 1942 b. — Sur la régénération de la tête des Mollusques Gastéropodes. *C. R. Acad. Sci.*, **214**, 883-885.
- 1942 c. — Etapes de la croissance chez *Arion rufus*. *C. R. Acad. Sci.*, **215**, 96-97.
- 1943. — Forme de la croissance des espèces du genre *Limax*. *C. R. Acad. Sci.*, **217**, 159-161.
- 1944. — Croissance des Mollusques Arionidés. *Bull. Biol. France et Belgique*, **78**, 215-256.
- 1945. — Evolution par variation du nombre des phases de croissance chez les Limaciens. *C. R. Acad. Sci.*, **220**, 62-63.
- ABRIC (P.), 1905. — Sur le mécanisme des mouvements des tentacules chez l'Escargot. *C. R. Soc. de Biol.*, **58**, 897-899.
- ADANSON (M.), 1769. — Lettre à BONNET (30 juillet 1769). *Journ. Phys.*, 1777, **10**, 173.
- ANCEL (P.), 1950. — La chimiotéragénèse. Doin, édit., Paris.
- BERTRAND (I.), 1930. — Techniques histologiques et neuropathologiques. Masson et C^{ie}, édit., Paris.
- BERTRAND (I.), LIBER (A.) et RANDOIN (L.), 1934. — Altérations anatomiques du système nerveux au cours de l'avitaminose B expérimentale. *Arch. Anat. micr.*, **30**, 297-380.
- BETZ (H.), 1947 a. — Etude de la dégénérescence et de la régénération des fibres musculaires striées après ischémie. *C. R. Soc. de Biol.*, **141**, 1275-1276.
- 1947 b. — Sur l'origine musculaire des cellules histiocytaires au cours de la dégénérescence des fibres striées. *C. R. Soc. de Biol.*, **141**, 1276-1277.
- 1951 a. — Contribution à l'étude de la dégénérescence et de la régénération musculaire. I. La transformation histiocytaire des fibres musculaires striées. *Arch. Anat. micr.*, **40**, 46-90.
- 1951 b. — II. Influence de la choline et du degré d'ischémie dans la transformation histiocytaire des muscles striés. *Arch. Anat. micr.*, **40**, 114-157.
- BLAINVILLE (M. DE), 1821. — *Dict. d'Hist. nat.*, article Hélice, **20**, 412-416.
- BOBBETZKY (N.), 1877. — Studien über die embryonale Entwicklung der Gastropoden. *Arch. für Micr. Anat.*, **13**, 95-169.
- BOLOGNARI (A.), 1959. — Recenti vedute sulla struttura, sull'ultra-struttura, sullo strato fisico-chimico e sulle attività funzionali del nucleolo. *Arch. Zool. Ital.*, **44**, 53-139.
- BONNET (M.), 1777. — Expériences sur la régénération de la tête du limacon terrestre. *Journ. Phys.*, **10**, 165-179.
- BORDAGE (E.), 1905. — Recherches anatomiques et biologiques sur l'autotomie et la régénération chez divers Arthropodes. *Bull. Sc. France et Belgique*, 5^e série, **39**, 306-453.
- 1915-1916. — Phénomènes histologiques de la régénération des appendices autotomisés chez les Orthoptères pentamères. *Bull. Sc. France et Belgique*, 7^e série, **49**, 199-236.
- BRACHET (A.) et BENOIT (F.), 1899. — Sur la régénération du cristallin chez les Amphibiens Urodèles. *Bibl. Anat.*, **7**, 277-295.
- BRACHET (J.), 1940 a. — La détection histochimique des acides pentose nucléiques. *C. R. Soc. de Biol.*, **133**, 88-90.
- 1940 b. — La localisation des acides pentosenucléiques pendant le développement des Amphibiens. *C. R. Soc. de Biol.*, **133**, 90-91.
- 1945. — Embryologie chimique. Desoer, édit., Liège.
- 1946. — Aspects biochimiques de la régénération. *Experientia*, **2**, 41-48

- 1948. — Le rôle et la localisation des acides nucléiques au cours du développement embryonnaire. *C. R. Soc. de Biol.*, **142**, 1241-1254.
- BRIEN (P.), 1943. — Etude de la régénération et de la rénovation de l'appareil sexuel chez les Hydroïdes (*Clava squamata* O. F. Müller). *Arch. de Biol.*, **54**, 410-475.
- BRIEN (P.) et RENIERS-DECOEN (M.), 1955. — La signification des cellules intersticielles des Hydres d'eau douce et le problème de la réserve embryonnaire. *Bull. Biol. France et Belgique*, **89**, 258-326.
- BRONSTED (H. V.), 1942. — Experiments with Li Cl on the regeneration of Planarians. *Arkiv. Zool.*, **34**, 1-8.
- BUTCHER (E. O.), 1930. — The formation, regeneration and transplantation of eyes in *Pecten* (*Gibbus borealis*). *Biological Bul. Wood's Hole*, **59**, 154-164.
- CARDOT (H.), 1924. — Observations physiologiques sur les embryons des Gastéropodes Pulmonés. *Journ. de Phys. et de Path. gén.*, **22**, 575-586.
- CARRICK (R.), 1938. — Life history and development of *Agriolimax agrestis* L., the grey-field slug. *Trans. Roy. Soc. Edinburgh*, **59**, 563-597.
- CARRIÈRE (J.), 1880. — Studien über die Regenerationserchnungen bei den wirbellosen. I. Die Regeneration bei den Pulmonaten. Würzburg., 4 to 56 pp., 2 pl.
- CAZAL (P.) et BOGORAZE (D.), 1944. — Glande épistellaire du Poulpe (*Octopus vulgaris*), organe neuricrine. *Arch. Zool. exp. et gén.*, **84**, 10-23.
- CERNY (A.), 1907. — Versuche über Regeneration bei Süßwasser und Nacktschnecken. *Arch. Entw. Mech.*, **23**, 389-392.
- CHÉTAIL (M.), 1956. — Caractères histologiques du blastème de régénération tentaculaire chez *Arion rufus* L. *C. R. Acad. Sci.*, **242**, 1655-1656.
- 1957 a. — Modalités de la dégénérescence nerveuse chez *Arion rufus* L. et *Agriolimax agrestis* L. après ablation partielle du tentacule. *Bull. Biol. France et Belgique*, **91**, 178-185.
- 1957 b. — Aspects de la dégénérescence nerveuse chez *Arion rufus* L. et *Agriolimax agrestis* L. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **81**, 192.
- 1958 a. — Action du bleu trypan sur le blastème de régénération tentaculaire d'*Arion rufus* L. *C. R. Acad. Sci.*, **246**, 642-644.
- 1958 b. — Synophtalmie spontanée chez *Arion rufus* L. et *Agriolimax agrestis* L. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **83**, 246.
- CHÈVREMONT (M.), 1939 — Les éléments du muscle squelettique cultivé *in vitro* : leur transformation en histiocytes. *C. R. Soc. de Biol.*, **132**, 487-490.
- 1942. — Recherches sur l'origine, la distribution, les caractères cytologiques et les propriétés biologiques des histiocytes et des macrophages par la méthode de la culture des tissus. Masson et C^{ie}, édit., Paris.
- CHÈVREMONT (M.) et FIRKET (H.), 1952 a. — Action du Béryllium en cultures de tissus. I. Effets sur la croissance et la mitose. *Arch. Biol.*, **63**, 411-428.
- 1952 b. — II. Etude histochimique : mécanisme d'action du Be et rôle de la phosphatase alcaline nucléaire dans la mitose. *Arch. Biol.*, **63**, 515-535.
- CHÈVREMONT (M.), CHÈVREMONT-COMHAIRE (S.) et FIRKET (H.), 1956. — Etude de l'action de la ribonucléase sur des cellules vivantes cultivées *in vitro* et en particulier de ses effets sur la mitose. *Arch. Biol.*, **67**, 635-654.
- CLÉMENT-NOËL (H.), 1944. — Acides pentosenucléiques et régénération. *Ann. Soc. Zool. Belge*, **75**, 25-34.
- COLLIN (R.), 1944. — L'organisation nerveuse. Editions Albin Michel, Paris.
- COTTE (P.), 1770. — Expériences sur les Limaçons. *Journ. Sav.*, janvier 1770, 357-365.
- 1774. — Suite des expériences et des observations commencées en 1768 sur les Limaçons. *Journ. Phys.*, **3**, 370.
- COUTEAUX (R.), 1941. — Recherches sur l'histogenèse du muscle strié des Mammifères et la formation des plaques motrices. *Bull. Biol. France et Belgique*, **12**, 101-248.
- CUÉNOT (L.), 1892. — Etudes physiologiques sur les Gastéropodes Pulmonés. *Arch. Biol.*, **12**, 683-740.
- DAVID (L.), 1934. — La contribution du matériel cartilagineux et osseux au blastème de régénération. *Arch. Anat. micr.*, **30**, 217-234.

- DAWYDOFF (C.), 1928. — Traité d'embryologie comparée des Invertébrés. Masson et C^{ie}, édit., Paris.
- DEMAL (J.), 1955. — Essai d'histologie comparée des organes chémorécepteurs des Gastéropodes. *Mém. Acad. Roy. Belg.*, **29**, 1-83.
- DUSTIN (A. P.), 1934. — La pycnose expérimentale ou crise caryoclasique réalisée par l'injection de dérivés d'aniline. *C. R. Soc. de Biol.*, **93**, 465-467.
- FIRKET (H.), 1951. — Recherches sur la régénération de la peau des Mammifères. *Arch. Biol.*, **62**, 309-352.
- FLEMMING (W.), 1869. — Die Haare Tragende Sinnesgellen in der Oberhaut der Mollusken. *Arch. Mikr. Anat.*, **5**, 415-444.
- 1870. — Untersuchungen über Sinneepithelien der Mollusken. *Arch. Mikr. Anat.*, **6**, 438-472.
- 1884. — Ueber Organe vom Bau der Geschmacksknospen an den Tastern verschiedener Mollusken. *Arch. Mikr. Anat.*, **23**, 141-148.
- FOL (H.), 1880. — Sur le développement des Gastéropodes Pulmonés. *Arch. Zool. exp. et gén.*, **8**, 103-232.
- FROUTIN (G. H.), 1937. — Etude du tissu conjonctif des Mollusques, particulièrement des Lamellibranches et des Gastéropodes. *Thèse Doct. ès Sciences*, Montpellier.
- GOLDNER (J.), 1929. — Contribution à l'étude du S. R. E. de l'Escargot; localisation et cytologie du processus d'accumulation des colorants vitaux acides. *C. R. Soc. de Biol.*, **101**, 749-751.
- GUIART (U.), 1900. — Zoologie descriptive. II. Doin, édit., Paris.
- HANKO (B.), 1914. — Regeneration der Augenfühler bei *Nassa mutabilis*. *Arch. Entw. Mech.*, **38**.
- HANSTRÖM (B.), 1925. — Ueber die sogenannten Intelligenzphären des Molluskengehirns und die Innervation des Tentakels von *Helix*. *Acta Zoologica*, **6**, 183-217.
- 1926. — Vergleich zwischen der Innervation der Fühler bei Stylommatophoren und Basommatophoren. *Zool. Anz.*, **66**, 197-207.
- HENCHMAN (A. P.), 1890. — The origin of development of the central nervous system in *Limax maximus*. *Bull. Mus. Comp. Zool. of Cambridge*, **20**, 169-208.
- HERBST (C.), 1916. — Ueber die Regeneration von antennenähnlichen Organen an Stellen von Augen. *Arch. Entw. Mech.*, **42**, 407-489.
- HESSE (R.), 1900. — Untersuchungen über die Organe der Lichtempfindung bei niederen Thieren. VI. Die Augen einiger Mollusken. *Zeit. Wiss. Zool.*, **68**, 379-478.
- HOFFMANN (E.), 1912. — Beiträge zur Teratologie des Schnecken. *Zool. Anz.*, **39**, 249-256.
- JEENER (R.), 1946. — Sur les liens de la phosphatase alcaline avec les ribonucléoprotéines du noyau cellulaire et des granules cytoplasmiques. *Experientia*, **2**, 458-459.
- JOBERT (D.), 1870. — Contribution à l'étude du système nerveux sensitif. *Journ. Anat. Phys. de Robin.*, **7**, 611-632.
- JOLLY (J.), 1949. — Sur la Régénération du globe oculaire chez les Batraciens. *C. R. Soc. de Biol.*, **143**, 895-896.
- 1950. — Recherches sur les ébauches optiques et la régénération de l'œil chez les Batraciens. *Arch. Anat. micr.*, **39**, 63-102.
- KÖNIG (E.), 1915. — Die Regeneration des Auges bei *Arion empiricorum*. *Arch. Mikr. Anat.*, **80**, 293-317.
- KUNZE (H.), 1921. — Zur Topographie und Histologie des Centralnervensystems von *Helix pomatia* L. *Zeit. Wiss. Zool.*, **118**, 25-203.
- LACAZE-DUTHIERS (H. DE), 1872. — Du système nerveux des Mollusques Gastéropodes Pulmonés aquatiques et d'un nouvel organe d'innervation. *Arch. Zool. exp. et gén.*, **1**, 437-500.
- LANGE (M. M.), 1920. — On the regeneration and finer structure of the arms of the Cephalopods. *Journ. exp. Zool.*, **31**, 1-40.
- LAVIOLETTE (P.), 1954. — Etude cytologique et expérimentale de la régénération germinale après castration chez *Arion rufus* L. *Ann. Sci. nat.*, **16**, 427-535

- LECAMP (M.), 1943. — Système réticulo-endothélial et régénération. *Bull. Biol. France et Belgique*, **77**, 110-119.
- 1954. — Sur le rôle de l'acétylcholine dans la régénération. *C. R. Acad. Sci.*, **238**, 955-956.
- LEGENDRE (R.), 1906. — Sur les modifications des cellules nerveuses d'*Helix pomatia* pendant l'asphyxie par immersion. *C. R. Soc. de Biol.*, **60**, 388-389.
- 1908. — La cellule nerveuse d'*Helix pomatia*. *Arch. Anat. micr.*, **10**, 287-555.
- LENDER (Th.), 1952. — Le rôle inducteur du cerveau dans la régénération des yeux d'une Planaire d'eau douce. *Bull. Biol. France et Belgique*, **86**, 140-216.
- LEYDIG (F.), 1871. — Ueber das Gehörorgan der Gastropoden. *Arch. Mikr. Anat.*, **7**, 202-218.
- MARINESCO (G.), 1909. — La cellule nerveuse. II. Doin, édit., Paris.
- MAY (R. M.), 1945. — La formation du système nerveux. Gallimard, édit.
- MEGUSAR (F.), 1907. — Regeneration der Tentakel und des Auges bei der Spitzschlamm Schnecke (*Limnaea stagnalis*). *Arch. Entw. Mech.*, **25**, 135-143.
- MEISENHEIMER (J.), 1898. — Entwicklungsgeschichte von *Limax maximus* L. *Zeit. Wiss. Zool.*, **63**, 574-664.
1912. — Die Weinbergschnecke *Helix pomatia* L. Leipzig. Verlag von Dr Werner. Klinkhart.
- MERLE (R.), 1949. — Les Nuits de la Limace. *Nature*, n° 3168, **77**, 97-99.
- MOQUIN-TANDON (A.), 1851. — Mémoire sur l'organe de l'odorat chez les Gastéropodes terrestres et fluviatiles. *Ann. Sc. nat. Zool.*, **15**, 151-158.
- 1855. — Histoire naturelle des Mollusques terrestres et fluviatiles. I. Baillière, édit., Paris.
- MÜLLER (M.), 1778. — Sur la reproduction des parties et nommément de la tête des Limaçons à coquille. *Journ. Phys.*, **12**, 111-118.
- NABIAS (B. DE), 1894. — Recherches histologiques et organologiques sur les centres nerveux des Gastéropodes. *Thèse, Doct. ès Sciences*, Paris.
- NAGEOTTE (J.), 1922. — L'organisation de la matière dans ses rapports avec la vie. Librairie Alcan, Paris.
- NAVILLE (A.), 1922. — Histogénèse et régénération du muscle chez les Anoures. *Arch. Biol.*, **34**, 36-171.
- 1924. — Recherches sur l'histogénèse et la régénération chez les Batraciens Anoures. *Arch. Biol.*, **34**, 235-345.
- NIKITENKO (M. F.), 1951. — Les conditions de la régénération du nerf optique. *Dokl. Akad. S. S. S. R.*, **77**, 153-155.
- NONNE (F.), 1925. — Versuche über des Einfluss des Nervensystems auf die Regeneration der Augen Pulmonaten. *Arch. Entw. Mech.*, **105**, 430-469.
- OVIO (J.), 1927. — Anatomie et physiologie de l'œil dans la série animale. Librairie Alcan, Paris.
- PELSENEER (P.), 1900. — Etudes sur les Gastéropodes Pulmonés, 2^e partie : système nerveux. *Mém. Acad. Roy. Belg.*, **54**, 28-76.
- PRINCE (J. H.), 1955. — The molluscan eyestak : using as an example, *Pterocera lambis*. *Texas Rep. Biol. Med.*, **13**, 323-339.
- RAVEN (Ch. P.), 1949. — On the structure of cyclopic, synophthalmic and anophthalmic embryos obtained by the action of Lithium in *Limnaea stagnalis*. *Arch. Neerl. Zool.*, **8**, 323-352.
- 1958. — Morphogenesis : the analysis of Molluscan development. Paris, Pergamon Press.
- REINBOLD (R.), 1958. — Régulation de l'œil et régénération du cristallin chez l'embryon de Poulet opéré en culture *in vitro*. *Arch. Anat. micr.*, **47**, 341-358.
- RETZIUS (G.), 1892. — Das sensible Nervensystem der Mollusken. *Biol. Untersuch.*, **4**, 11-18.
- ROTARIDES (M.), 1930. — Eine interessante Mindbildung bei der Weinbergschnecke. *Arch. Molluskenk. Frankfurt. A. M.*, **62**, 222-224.
- RULLIER (F.), 1949. — Etude morphologique, histologique et physiologique de l'organe nuchal des Annelides Polychètes. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **75**, 18-24.
- SAMASSA (P.), 1894. — Ueber die Nerven der augentragende Fühler von *Helix pomatia*. *Zool. Jahrb. Abt. Anat.*, **7**, 593-605.

- SANCHEZ (S.) et BORD (C.), 1958. — Origine des cellules neurosécrétrices chez *Helix aspersa*. Müll. C. R. Acad. Sci., **241**, 845-847.
- SAND (R.), 1906. — La neuronophagie. Mém. Acad. Roy. Belg.
- SARASIN (P. et F.), 1887. — Aus der Entwicklungsgeschichte der *Helix Waltoni*. Zool. Anz., **10**, 599-602.
- 1888. — Aus der Entwicklungsgeschichte der *Helix Waltoni*. Ergebn. nat. Forsch. Ceylon., **1**, 35-69.
- SCHAEFFER (M.), 1768-1770. — Versuche über die Reproduktion der Schnecken. Regensburg.
- SCHMIDT (F.), 1895. — Beiträge zur Kenntniss der Entwicklungsgeschichte der Stylomatophoren. Zool. Jahrbn. Anat. und Ontog., **8**, 318-341.
- SCHULZ (F.), 1938. — Bau und Funktion der Sinneszellen in der Körper oberfläche von *Helix pomatia*. Zeitschr. Morph. Okol. Tiere, **33**, 555-581.
- SERRA (J. A.), 1958. — Interpretation of nucleolar inclusions. Nature, **181**, 1544-1545.
- SICARD (H.), 1873. — Sur la structure des ganglions cérébroïdes du *Zonites algirus*. C. R. Acad. Sci., **77**, 275-278.
- 1874. — Recherches anatomiques et histologiques sur le *Zonites algirus*. Thèse Doct. ès Sciences, Paris.
- SMIDT (H.), 1902. — Die intraepitheliale freien Nervenendigungen bei *Helix* und ihre Beziehungen zu Sinneszellen und Drüsen. Anat. Anz., **20**, 495-506.
- SMULDERS (J.), 1951. — Recherches sur l'athrocytose discriminante dans le système réticulo-endothélial. Etude qualitative et quantitative. Arch. Biol., **62**, 133-195.
- SPALLANZANI (L.), 1768. — Prodomo di un opera ad impremermi sopra le riproduzione animali. Modena.
- TARENNE (G.), 1808. — Cochliopétrie. Recueil d'expériences sur les Hélices. Paris.
- TECHOW (G.), 1911. — Regeneration dei Weichkörpers den Gastropoden. Arch. Entw. Mech., **31**, 353-386.
- THOMAS (J. A.), 1938. — Recherches sur la transformation, la multiplication et la spécificité des cellules hors de l'organisme. La cellule vitelline. Les cellules du type fibrocyte et histiocyte. Ann. Sc. nat. Zool., **1**, 209-579.
- 1949. — Conception du système réticulo-histiocytaire. La régulation de l'état histiocytaire et la spécificité cellulaire. Rev. Hémat., **4**, 639-654.
- 1957. — Les facteurs de la croissance cellulaire : activation et inhibition. Masson et C^{ie}, édit., Paris.
- TUZET (O.), SANCHEZ (S.) et PAVANS DE CECCATY (M.), 1957. — Données histologiques sur l'organisation neuro-endocrine de quelques Mollusques Gastéropodes. C. R. Acad. Sci., **244**, 2962-2964.
- URVOY (J.), 1959. — Etude de la régénération des organes sensoriels antennaires chez *Carausius morosus* Brunner. Ann. Sci. nat. Zool., 12^e série, **21**, 309-316.
- VALLETTE (M.), 1929. — Régénération du museau et territoires de régénération chez les Urodèles. Bull. Biol. France et Belgique, **63**, 95-149.
- VALMONT DE BOMARE (M.), 1775. — Article « Limaçon », Dict. d'Hist. nat., **3**, 626-637.
- VAN MOL (J. J.), 1960. — Etude histologique de la glande céphalique au cours de la croissance chez *Arion rufus* Linné. Ann. Soc. Roy. Belgique, **91**, 45-55.
- VERRIER (M. L.), 1938. — Les yeux et la vision. Librairie Félix Alcan, Paris.
- WARTEL (C.), 1768. — Mémoire sur les Limaçons terrestres de l'Artois, pour servir à l'histoire naturelle de cette province. Arras.
- WÖLPER (CH.), 1950. — Das osphradium der *Paludina vivipara*. Zeits. Vergl. Phys., **32**, 272-286.
- YUNG (E.), 1904. — Recherches sur le sens olfactif de l'Escargot. Arch. Psych., Genève, **3**, 1-78.
- 1911. — Anatomie et malformations du grand tentacule de l'Escargot. Rev. suiss. Zool., **19**, 339-383.

Soulisse et Cassegrain, Imp., Niort. Dépôt légal : 4^e trim. 1963. N^o d'ordre : 613.

Masson et C^{ie}, Edit., Paris. Dépôt légal : 4^e trim. 1963. N^o d'ordre : 4076.

(Printed in France.)

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté :

**ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE LA MORPHOGENÈSE
DU BOURGEON DE MEMBRE
CHEZ L'EMBRYON DE POULET**

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 8 janvier 1963.

*Le Doyen
de la Faculté des Sciences,*

MARC ZAMANSKY

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

*Le Recteur
de l'Académie de Paris,*

JEAN ROCHE

Printed in France.